

Lezione di Ematologia del 3/10/2013 (1)

Lezione di Ematologia del 3/10/2013

Prof. **Giovanni Pizzolo**
Sbobbinate: **Michele Tosi**
Revisore: **Filippo Gibelli**

(Il professor Pizzolo terrà soltanto le prime 3 lezioni, mentre le successive saranno tenute dal professor **Vinante**, dal professor **Todeschini** e dal professor **Ambrosetti**)

APPROCCIO ALLE MALATTIE ONCO-EMATOLOGICHE [slide 3-4]

Come per tutte le malattie esistono **vari criteri di classificazione**, che finalmente hanno una condivisione a livello internazionale. La **WHO** (*World Health Organization*) nel 2008 ha pubblicato questo volume, che **non è necessario** andare a leggere perché è troppo complicato per il vostro livello... ma se andate a cercare le **malattie oncoematologiche**, cioè i tumori del tessuto emopoietico e linfoide, solo per quanto riguarda il tessuto linfoide (*che non è il solo tessuto emopoietico, c'è il mieloide poi*), comprendono tutte queste entità (*quelle in tabella*)

Se osservate che a fianco di ogni numero spesso ci sono più patologie, vi renderete conto come **superiamo centinaia di entità**. [NdR: il professore dice che non è necessario conoscerle tutte, ma solo una classificazione generale]

Perché sono così numerose, eterogenee, con prognosi diverse, con metodiche di approccio diagnostico diverso, con risposte al trattamento diverso, con prospettive di vita molto diverse?

Perché le cellule normali da cui possono trarre origine le varie malattie neoplastiche del sangue sono **numerose, eterogenee, funzionalmente e fenotipicamente diversificate**, vivono e si sviluppano in **microambienti diversi** (*midollo osseo, LN, timo, MALT, ecc*).

EMATOPOIESI MIDOLLARE [slide 5]

Il concetto è c'è Adamo ed Eva in cima, le **cellule pluripotenti** da cui deriva tutta la progenie, che si sviluppa soprattutto a livello midollare, ma non solo, e che si differenzia via via nella **linea mieloide**, che darà origine poi alle **forme mature** che sono i globuli rossi, le piastrine, i monociti, i PMN, gli eosinofili, i basofili, ecc, e nella **linea linfoide** da cui traggono origine le varie popolazioni che vanno sotto i contenitori della **linea T** e della **linea B**, fino ad arrivare poi alle cellule più mature e alla cellula più matura della linea B, che è la plasmacellula, che produce gli anticorpi, le immunoglobuline.

Dove succede tutto questo?

Le strutture emolinfopoietiche sono il **midollo osseo** in particolare (*da non confondere con il midollo spinale!*), che si trova nelle ossa lunghe e ossa piatte, la milza, il timo e i linfonodi.

Struttura del linfonodo [slide 7]

Se sezioniamo un linfonodo normale e lo guardiamo dal punto di vista istologico, compare un quadro di questo tipo: abbiamo i **follicoli linfatici**, fatti da una parte esterna che è la **corona** e da una parte interna che si chiama **centro germinativo** e poi c'è una zona tra follicolo e follicolo che è la **zona paracorticale**.

Queste che appaiono morfologicamente diverse come aree, ma dal punto di vista della singola cellula sono **assai difficili da distinguere fra di loro**, se le andiamo ad analizzare con i sistemi che oggi sono consentiti dalle tecniche moderne, in particolare l'**immunoistologia**, cioè la possibilità di identificare l'antigene cellulare sulle varie cellule e identificare in questo modo le varie cellule sulla base della presenza o meno di determinati antigeni, vediamo che la **corona linfoide è costituita da linfociti B** che esprimono tra l'altro (*ma non solo*) immunoglobuline di superficie di tipo **IgM**, e la **zona paracorticale** che è costituita da **linfociti T**, ma all'interno dei linfociti T ci sono almeno **2 popolazioni importanti**, che sono i linfociti T CD4+ e i linfociti T CD8+.

I linfociti T maturi circolano nel sangue e qui si ritrovano sia CD4+ che CD8+, i primi definiti con fenotipo/funzione *helper* e in **maggior numero**, gli altri con fenotipo/funzione *suppressor*, **meno numerosi**.

Da ognuna di queste cellule della filiera differenziativa mieloide, che poi si articola nelle varie linee, e della filiera linfoide, che poi porta alla produzione dei linfociti B e T, in qualsiasi momento che portano ad avere una cellula più differenziata, più matura, che sono moltissimi, può avvenire l'evento, o gli eventi più spesso, di tipo neoplastico che porta alla **proliferazione incontrollata della cellula**, che essendo una cellula del sistema linfopoietico porta ai **tumori del sistema emolinfopoietico**. Questo spiega perché sono le forme sono tante.

Informazioni diagnostiche preziose [slide 9-16]

A seconda del livello maturativo della cellula di riferimento da cui traggono origine, i vari tumori del sangue hanno caratteristiche diverse che noi dobbiamo cogliere attraverso una sequenza, un **processo logico** che deve partire sempre dai dati relativi alla clinica.

Per quanto riguarda l'ambito ematologico sono assolutamente importanti i **dati dell'esame emocromocitometrico** e il **dato morfologico dei vari elementi del sangue**, che possiamo valutare al microscopio su **strisci di sangue periferico**, di **aspirato midollare** oppure in altri modi. E poi le **indagini strumentali**.

Con questa scaletta si appropria qualsiasi paziente per il quale si sospetta una patologia ematologica.

Dal **punto di vista clinico** le informazioni che sono importanti sono:

âœ Età: ci sono malattie che colpiscono prevalentemente l'**età pediatrica** o prevalentemente l'**età adulta** o l'**età anziana**; una delle malattie di cui parleremo, la **leucemia linfatica cronica non colpisce praticamente mai nessuno al di sotto dei 30 anni** e ha il suo picco di incidenza nei pazienti che hanno più di 65 anni;

âœ **Dati anamnestici** (*Sta male? Ha la febbre? Ha un linfonodo ingrossato? Ce l'ha da quanto tempo? È calata di peso? Qual è la sua storia passata? Ecc...*)

âœ **Condizioni generali**

âœ **Sintomi**

âœ **Reperti obiettivi** (*pallore, splenomegalia, linfonodi ingrossati, emorragie, ecc*)

I dati dell'**emocromo** sono assolutamente rilevanti per orientarci in queste malattie:

âœ **Citopenia**: riduzione della quantità di cellule che ci aspettiamo essere presenti nel sangue periferico (*RBC, WBC, PLT*); può essere isolata, cioè riguarda solo una linea, oppure tutte le linee (*pancitopenia*).

âœ **Leucocitosi**: aumento del numero di **globuli bianchi**; può essere **isolata** oppure **associata a piastrinopenia e/o anemia**; può interessare linee diverse, i neutrofili, oppure cellule mieloidi immature oppure i linfociti.

Il professore mostra **la schermata che osserva un laboratorista** per l'esame emocromocitometrico soffermandosi solo sui valori sballati;

- **Primo esempio**: il paziente ha i **WBC** (*white blood cells*) a **55.000**... poi guardiamo i **valori di riferimento per la serie rossa**, tra i quali il più importante è l'**emoglobina: 11,1 g/dL**, quindi il paziente è **un po' anemico**... le piastrine sono **263.000**, che è un **valore normale**.

Quindi in questo caso abbiamo **una leucocitosi** con anche una **leggera anemia**. Questa leucocitosi è costituita da un **aumento dei neutrofili**, in quanto la percentuale dei suoi neutrofili è del **6,2%**...

6,2% di 55.000 fa **3.420**, quindi un **numero pressoché normale** (*quindi NON E' NEUTROPENICO*).

Ha **83% di linfociti**... è dunque linfocitosico? **Sì**, perché **ne ha 45.000**.

Quindi in conclusione il paziente ha una **leucocitosi prevalentemente isolata** (*facciamo finta che non abbia l'anemia*) e la leucocitosi è costituita da una **linfocitosi**.

- **Secondo esempio**: l'emoglobina ed i globuli bianchi sono **normali**.

Le piastrine sono **61.000**: questa è una **piastrinopenia isolata** con i restanti valori dell'emocromo **assolutamente normali**.

Davanti ad un quadro del genere **non ci preoccupiamo tanto**, perché complessivamente la produzione midollare è **efficace** (*c'è solo la pecca della piastrinopenia*).

- **Terzo esempio**: i globuli bianchi sono **198.000**, che è un **valore inquietante**, ma ancora più inquietante è il fatto che c'è anche una **importante anemia e anche una importante piastrinopenia**.

Questo paziente ha chiaramente una **leucemia acuta**... ce lo suggerisce anche il fatto che il laboratorista, nello striscio di sangue periferico, vede soprattutto le **LUC** (*large unstained cells*): non assomigliano ai neutrofili, non assomigliano ai linfociti, hanno una cromatina molto immatura, dei granuli citoplasmatici molto importanti, evidenziati con **mieloperossidasi**.

La valutazione della **morfologia** è molto importante nella diagnostica delle malattie oncoematologiche, soprattutto le leucemie.

âœ **Striscio di sangue periferico**

âœ **Aspirato midollare** o **biopsia osteomidollare**

âœ **Biopsia del linfonodo** o di **altri eventuali tessuti**

Per quanto riguarda le **indagini strumentali**:

âœ **Imaging radiologico**: una volta fatto l'emocromo e gli accertamenti morfologici, dobbiamo **capire quanto la malattia sia estesa** (*stadiazione*) e in base alla diffusione fare delle considerazioni di tipo prognostico e anche terapeutico.

âœ **Indagini immunofenotipiche**: l'impiego mirato di **anticorpi diretti specificamente contro antigeni** che sono **presenti o attesi** o **non attesi** in certe popolazioni piuttosto che altre su **cellule in sospensione** (*citofluorimetria*) o su **tessuti** (*immunoistochimica*) ci consente di dare dei nomi alle popolazioni cellulari e quando questi nomi corrispondono a quelli che ci aspettiamo di trovare in una certa patologia possiamo fare diagnosi.

Quelle 100 e più forme che riguardavano le **neoplasie linfoidi** possono essere **ricondotte e semplificate in grosse categorie**:

[slide 17]

âœ le **leucemie**

âœ i **linfomi**

âœ le **malattie mieloproliferative**

âœ le **mielodisplasie** (*ne parlerà il professor Ambrosetti*)

âœ le **neoplasie secernenti immunoglobuline**, tra cui i **mielomi** (*ne parlerà il professor Todeschini*)

All'interno di ciascuna di queste ci sono **diverse categorie**: per quanto riguarda le leucemie ci sono le forme **crniche e acute** e la stessa cosa per quanto riguarda le forme linfoidi **crniche ed acute**.

Per quanto riguarda i linfomi, si possono suddividere in 2 gradi categorie: **Hodgkin e non Hodgkin**.

I linfomi sono sicuramente la **patologia prevalente** nell'ambito dell'ematologia, ma **anche le leucemie sono molto numerose** (*più spesso crniche*).

Ci sono poi altre forme che però vedono **numeri sottostimati**, perché sono forme che **richiedono un approccio assolutamente specialistico** e una organizzazione diagnostico-biologico-assistenziale che è disponibile **solo in alcuni centri**.

Poi altre patologie come il **mieloma, le mielodisplasie, le mieloproliferative crniche** sono state seguite soprattutto negli anni passati anche in reparti di Medicina e Geriatria.

Si può ulteriormente ridurre all'osso questa classificazione distinguendo:

• **Malattie mieloproliferative**

• **Malattie linfoproliferative**.

Anche in questo caso possiamo distinguere tra **acute e crniche** e all'interno delle linfoproliferative distinguere **linfomi, leucemie e mieloma**.

E' chiaro che da un punto di vista generale questo schema semplificato può essere utile, ma chi deve scegliere le strategie terapeutiche deve entrare molto di più nel dettaglio.

Tra le mieloproliferative abbiamo le **leucemie acute mieloidi** (*faremo una lezione intera sulle leucemie acute*) e le forme crniche **comprendono la leucemia mieloide cronica (LMC o CML), la policitemia vera, la trombocitemia essenziale e la mielofibrosi idiopatica**.

Le malattie neoplastiche ematologiche rappresentano circa **il 10% di tutte le neoplasie**.

Le leucemie e i linfomi sono al **9° e all'8° posto rispettivamente tra le cause di morte per neoplasia**.

Nel Veneto ci sono circa **un migliaio di nuovi casi l'anno** e complessivamente ci sono circa **20 casi nuovi ogni 100.000 abitanti ogni anno** (*quindi sono forme relativamente rare, anche in ambito oncologico rispetto al tumore alla mammella o al tumore del colon e così via*).

Sono più frequenti nel **sesso maschile** e **aumentano con l'aumentare dell'età** perché c'è negli anni un accumulo di eventi oncogeni che quando non riescono più ad essere controllati dal sistema di vigilanza si sviluppano.

[A domanda il prof. risponde che il testo consigliato è il **Castoldi-Liso** (*Malattie del sangue e degli organi ematopoietici, McGraw-Hill*) come testo dedicato, oppure l'**Harrison**, che però porta lo studente meno "per mano"]

LE MALATTIE LINFOPROLIFERATIVE CRNICHE [Slide 3-4]

Sono situazioni neoplastiche caratterizzate dalla **proliferazione clonale di cellule di derivazione linfoide**.

Hanno **caratteristiche cliniche eterogenee**:

• sia **dal punto di vista della presentazione clinica**, cioè dei sintomi (*presenti, assenti, di un certo tipo piuttosto che di un altro*)

• sia **dal punto di vista del tipo di crescita e della diffusione** (*diffusione leucemica piuttosto che tissutale, in certi organi piuttosto che in certi altri*)

• sia **dal punto di vista della gravità** (*ci sono patologie che portano a morte rapidamente il paziente, sempre meno fortunatamente, ci sono altre che consentono un certo grado di coabitazione con l'individuo che le ospita anche per moltissimi anni*)

Sono riconducibili di solito (*non sempre*) a **2 tipi principali di crescita o presentazione**:

• **leucemica**

e/o

• **linfomatosa**

Vi sono **alcune forme di LLC** (*leucemia linfatica cronica*) e forme correlate che **possono associarsi alla produzione di gammopatie monoclonali e possono presentarsi anche come linfoma**, soprattutto a carico dei linfonodi.

Ma vi sono anche dei linfomi che possono presentarsi **in fase leucemica** o presentarsi **associati alla presenza di una gammopatia monoclonale**. E così via.

[slide 5-7]

Una caratteristica spesso comune alla presentazione di queste forme linfoproliferative è la **linfadenomegalia**, cioè l'aumento di volume dei linfonodi. **ATTENZIONE: è vietato l'automatismo linfadenomegalia = malattia linfoproliferativa perché le cause di linfadenomegalia sono molte**.

I linfonodi possono ingrossarsi per vari motivi, spesso benigni.

• Per esempio, le **infezioni secondarie alla risposta immunologica all'infezione da piogeni** (*afte, foruncoli, ecc*) o alle **infezioni virali** (*p. es. mononucleosi, morbillo, ecc*).

• Le **infezioni dei linfonodi** (*ascesso del linfonodo, reazione granulomatosa da TBC*)

• In corso di **malattie autoimmuni** (*lupus eritematoso sistemico, artrite reumatoide*)

Reazioni ai farmaci

In corso di **sarcoidosi** o di **HIV**

Proliferazione neoplastica (la minoranza rispetto a tutte le altre cause)

Queste proliferazioni neoplastiche possono essere **primitive**, cioè nate, cresciute e sviluppate **all'interno dei linfonodi** per espansione e crescita

incontrollata (*neoplastica*) degli elementi linfoidei (*linfomi, malattie linfoproliferative croniche, leucemia linfatica acuta*)

Oppure possono essere linfoadenomegalie legate all'arrivo da altri distretti attraverso la via sanguigna o linfatica di **cellule tumorali di altra origine** (*metastasi linfonodali, vari tipi di tumori solidi, ma anche leucemie mieloidi che di per sé non dovrebbero dare linfoadenomegalia*)

Elementi di orientamento diagnostico [slide 8]

Piccoli linfonodi (*diam <0.5-1 cm*) latero-cervicali o sotto-mandibolari in bambini o adolescenti in assenza di sintomi clinici

Linfonodo isolato, talora dolente, che drena da zona infetta (foruncoli, infezioni cavo orale, ascessi dentari, ecc)

Linfoadenopatia diffusa, insorgenza improvvisa, piccole dimensioni (<1 cm), accompagnata da febbre/febbre e altri segni (**es: esantemi**)

Linfoadenopatia diffusa, rapido scadimento condizioni, febbre, pallore, epatosplenomegalia, diatesi emorragica, alterazioni emocromo

Linfoadenomegalia diffusa, variabile, presente da tempo, buone condizioni generali, paziente adulto o anziano, talora splenomegalia, leucocitosi

LN isolato, non dolente, in sede atipica (sottoclaveare, ascellare), consistenza aumentata, segni clinici sistemici

Risposta fisiologica a stimoli flogistici cronici.

Nessuna terapia (*lenta risoluzione spontanea*).

In questo caso il compito più difficile del medico è tranquillizzare la mamma.

Linfoadenite reattiva

Terapia dell'infezione (*risoluzione rapida*)

Linfoadeniti infettive

Terapia sintomatica come paracetamolo (*risoluzione rapida*)

Sintomi d'allarme di leucemia acuta

Ospedalizzazione immediata

Probabile malattia linfoproliferativa cronica, spesso CLL

Consulenza ematologica

Probabile natura neoplastica (metastasi, linfoma)

Ospedalizzazione e biopsia

MALATTIE LINFOPROLIFERATIVE CRONICHE A PRESENTAZIONE LEUCEMICA [slide 10]

Possono essere a **derivazione B-linfocitaria** (*più del 90%*)

- o **LLC** = leucemia linfatica cronica
- o **HCL** = *hairy cell leukemia*, leucemia a cellule capellute
- o **B-PLL** = leucemia pro-linfocitaria
- o **Linfomi in fase leucemica** (p. es. FCL = follicolari, MCL = mantellari)
- o **SLVL** = linfoma splenico a linfociti villosi
- o Varie altre forme

Possono essere a **derivazione T-linfocitaria** (*meno del 10%*)

- o Proliferazione di **linfociti granulati**
- o **leucemia prolinfocitica**
- o **sindrome di Sézary**
- o **leucemia/linfoma T dell'adulto**
- o **fase leucemica dei linfomi T**

[NdR: il prof. non si sofferma su tutte le forme elencate e dice che all'esame non sarà necessario conoscerle in profondità, ma che sta tutto alla nostra voglia di approfondimento]

Hanno delle **caratteristiche generali comuni** [slide 11]:

• **Epidemiologiche**: frequenza (*pur non elevatissima rispetto agli altri tumori*) relativamente elevata e con maggior incidenza nell'età matura/senile

• **Biologiche**: proliferazioni clonali di cellule B o T mature

• **Cliniche**: coinvolgimento variabile da forma a forma del midollo osseo, del sangue, dei linfonodi e della milza

• **Prognostiche**: di solito hanno un decorso lento (*con eccezioni*), progressivo, (*era*) poco influenzato dal trattamento

[Il prof. scorre in modo molto rapido la slide 12 che illustra la maturazione delle cellule B e T in modo schematico e indica il punto dove prende origine la maggior parte delle malattie linfoproliferative croniche a presentazione leucemica]

LEUCEMIA LINFATICA CRONICA

Caso clinico 1 [slide 13-17]

- Maschio
- 72 anni

- fumatore
- ferroviere in pensione
- obeso
- in cura da 4 anni per **modica ipertensione arteriosa**
- da 3 anni **diabete di tipo II** lieve trattato con sola dieta
- da qualche mese astenia modesta (*sintomo estremamente poco significativo*)
- emocromo (*suggerito dal curante per riscontro di linfonodi superficiali modestamente ingrossati*) con leucocitosi (GB 39.000/ μ L) con prevalenza di elementi linfoidi maturi, **non anemia né piastrinopenia** (*leucocitosi isolata*)
- Arrivato in Ematologia ha:

oEmocromo

GB 41.000/ μ L

neutrofili 4% (non è neutropenico)

linfociti (piccoli, maturi) 96%

ombre di Gumprecht

Hb 13.6 gr/dL

Piastrine 220.000/ μ L

oAltri esami di laboratorio

Glicemia basale 120 mg/dl

Ipogammaglobulinemia (9% con 6.4 gr/dL di proteine totali)

oApprofondimento diagnostico

Aspirato midollare (MO): 60% piccoli linfociti (*linfociti nel Midollo normale sono 15%-20%*)

Biopsia osteomidollare (BOM): noduli linfoidi (piccoli Ly)

Immunofenotipo dei linfociti (*eseguito in citofluorimetria da un prelievo di sangue del paziente*): **CD19+** (*antigene presente sui linfociti B*), **CD5+** (*antigene presente sui linfociti T e certe popolazioni B anomale*)/**CD23+**, **sIg+/-** (*esprese debolmente*)

oEsame obiettivo: qualche linfonodo non particolarmente grosso laterocervicale, sottoclaveare e ascellare; **milza ingrossata**.

Sulla base di questi elementi viene posta diagnosi di **leucemia linfatica cronica di tipo B, stadio 1 di Rai** (*Rai è un brillantissimo indiano che ha sviluppato un sistema di valutazione prognostica*)

La B-CLL rappresenta la **più frequente tra le malattie linfoproliferative croniche di tipo B**.

Al secondo posto abbiamo le **fasi leucemiche di vari linfomi**. Poi ci sono **varianti e forme atipiche**.

La **leucemia linfatica cronica** al di sotto dei 40 anni è praticamente inesistente. È soprattutto oltre i 60 anni che c'è la maggior frequenza di pazienti con questa malattia.

Caratteri generali [slide 18]

• È un disordine linfoproliferativo cronico leucemico **acquisito**.

• Costituisce circa il **20-30% di tutte le leucemie**.

• Ha **eziologia sconosciuta**.

• C'è una certa **predisposizione familiare**, soprattutto in certe aree geografiche.

• Poco conosciuta in estremo Oriente, ma **nella razza caucasica è più frequente**.

• La **massima incidenza è fra 50-70 anni**, con una certa prevalenza nel sesso maschile.

• La **diagnosi è facile**.

• Decorso prolungato, ma variabile. Ci sono pazienti che muoiono di altre cose, perché la malattia insorge in età avanzata, e ci possono essere sopravvivenze anche di 15-20 anni.

• **Scarsi risultati della terapia** in termini di sopravvivenza (*ma qualcosa sta cambiando*).

Elementi fisiopatologici [slide 19]

• È rappresentata dall'**espansione e accumulo progressivamente nel sangue**, MO e organi linfoidi di linfociti B maturi immunoincompetenti (*cioè hanno perso la loro capacità di funzionare in modo corretto*). Questo accumulo è dovuto soprattutto alla **perdita della capacità di andare incontro all'apoptosi**.

• La controparte normale sono i **linfociti B maturi CD5+**, che sono in certi distretti dell'organismo peraltro scarsissimamente rappresentati.

• Hanno immunofenotipo caratteristico (**CD19+**, **CD5+/CD23+**, **sIg +/-**).

• Frequenti **alterazioni cromosomiche**, soprattutto a carico dei **cromosomi 12, 13 e 17**.

• Sono accompagnate quasi sempre da **numerose e complesse alterazioni molecolari** e a seconda di quali di queste alterazioni sono presenti il paziente che ne è portatore ha delle aspettative prognostiche diverse.

• C'è una **complessa disregolazione del sistema immunitario**.

Quali sono le circostanze di diagnosi? [slide 20-21]

• In più della metà dei casi sono **circostanze casuali**, persone che stanno bene, che non hanno nessun problema, ma all'esame dell'emocromo fatto per qualche motivo il laboratorista segnala che c'è una linfocitosi e da lì prende il via l'iter diagnostico.

Oppure, sempre in pieno benessere, più raramente, il paziente o il medico curante **si accorge dell'ingrossamento di qualche linfonodo e fa l'emocromo**, che trova linfocitosi.

Oppure il paziente ha dei sintomi, che possono essere molto variabili, aspecifici (*malessere, sudorazione, febbricola/febbre, sintomi di stanchezza legati ad anemia*). All'esame obiettivo il medico trova **linfadenomegalia, talora epato-splenomegalia e fa fare l'emocromo, che trova linfocitosi**.

Per essere considerata sospetta di LLC la linfocitosi è per convenzione **superiore ai 5000/μL**. Ma il dato è variabile, più spesso compreso fra 10-50.000/μL, talora anche più elevata. **Piccoli linfociti maturi indistinguibili da quelli normali**. Ombre di Gumprecht. Granulociti sono normali. Piastrinopenia e anemia sono veramente molto rare (*meno del 10%*) perché si instaurano in **fasi avanzate della malattia** quando il midollo viene **quasi completamente sostituito nel corso degli anni** o in presenza di una determinata criticità clinica, peraltro limitata a pochi pazienti, e lì non c'è più "spazio" per la crescita e la maturazione delle cellule normali.

Morfologia dei linfociti [slide 22]

presenza delle **ombre di Gumprecht**, che sono dei residui cellulari, di colore rosato in uno striscio di sangue, sono più fragili rispetto alle altre

linfociti di dimensioni e caratteristiche normali, cromatina non matura, senza nucleolo

Elementi diagnostici tipici [slide 23]

età superiore ai 50 anni

linfocitosi assoluta con morfologia tipica

può esserci o non esserci una **linfadenomegalia diffusa**, più spesso di moderate dimensioni (*ma in meno del 50% dei casi*)

può esserci (ma in meno di 1/3 dei casi) un **aumento di volume del fegato e della milza**

immunofenotipo: **linfociti B clonali** ($\kappa+$ o $\lambda+$), **CD5+**, **CD23+**, **scarsa espressione di sIg**

in particolari situazioni e oggi quando il paziente ha delle caratteristiche che gli comportino l'inizio del trattamento (*nella maggior parte dei casi non si tratta di un paziente con LLC*) lo si osserva e soltanto quando e se la malattia nel corso degli anni evolve da diversi punti di vista o per la comparsa dei sintomi o per la comparsa di un incremento importante dei linfonodi o perché il paziente sviluppa una citopenia si prende in considerazione il trattamento; oggi prima si inizia il trattamento e poi si fanno degli approfondimenti di vario tipo: aspirato midollare, BOM, istologia linfonodale, ecc. [NDR: passaggio poco chiaro, riporto testuale]

Diagnosi differenziale [slide 24]

Una linfocitosi **non è di per sé diagnostica per una leucemia linfatica cronica**... ci possono essere altre cause di linfocitosi...

linfocitosi reattive (*più spesso di tipo T o se di tipo B sono policlonali*)

altre malattie linfoproliferative croniche (*più frequentemente*)

linfoma centrollicolare in fase leucemica

linfoma mascellare all'esordio

forme varianti e atipiche

ovarie altre

Caso clinico 2 [slide 25]

Sig. Innamorato Tranquillo, classe 1943 (*quindi per forza rientra nella statistica*).

Hb 13,1

PLT 280.000

WBC 10.000

Quindi in base a questi dati potrebbe essere nella norma però ha:

Neutrofili 28%

Piccoli linfociti maturi 68%

Questo è il **tipico modo di presentarsi della LLC**

Allo striscio di sangue periferico si osservano le **ombre di Gumprecht**, i piccoli linfociti e un granulocita neutrofilo.

Caso clinico 3 [slide 27]

Sig. Amoroso Modesto, classe 1996

Hb 12,6

PLT 213.000

WBC 12.700 (*con linfocitosi*)

Valori **non tanto diversi rispetto al caso precedente**, però la morfologia dei linfociti lo è: sono **eterogenei**, spesso di **grandi dimensioni**, di **aspetto attivato**.

In questo caso per l'età e per la morfologia **non pensiamo minimamente che sia LLC** ma pensiamo invece ad un qualche altro tipo di patologia reattiva.

Caratterizzazione immunofenotipica da sangue periferico al citofluorimetro [slide 29-30]

Il signor Innamorato Tranquillo ha 38% di CD3. Quanti WBC aveva? **Circa 10.000**. Quanti linfociti aveva? Il 68%. Quindi ha il 38% del 68%, **poco più di 2000 linfociti T**. Normali, in realtà. Quelli che sono **umentati sono i linfociti B**. Nel sangue

periferico in condizioni normali sono il **10% di tutti i linfociti**. Lui ne ha oltre 2000-2500, nella **forma iniziale di leucemia linfatica cronica**. Questi elementi **esprimono CD19, hanno CD23, le cellule CD19+ sono anche CD5+, le Ig sono debolmente espresse** (*usiamo un sistema semiquantitativo dove vediamo 3+ (+++) quando l'immunofluorescenza è particolarmente forte e vediamo un +/- quando è appena visibile*). C'è una **positività per le cellule κ+, mentre le cellule λ+ sono pochissime**.

Il signor Amoroso Modesto ha **tutti linfociti T CD3+**, che sono **anche CD5+** perché CD5 nasce come marcatore di cellule T. Sono **prevalentemente CD8, poco CD4, con un rapporto invertito CD4/CD8** (*in condizioni di normalità il rapporto deve essere a favore dei CD4*). 1% di cellule CD19+, queste cellule non sono cellule T. Ci sono cellule CD8 che esprimono l'**HLA-DR**, che noi sappiamo essere un marcatore di attivazione cellulare dei linfociti T, che poi esprimono varie altre cose.

Uno aveva la **leucemia linfatica cronica**, l'altro la **mononucleosi infettiva**.

[Slide 31]



Questo è l'immunofenotipo come appare con i citogrammi di un citofluorimetro.

Nel primo riquadro, **ordinate e ascisse, CD19 e CD3**. Il sangue di questo paziente mostra che guardando la **densità dei puntini la maggior parte delle cellule sono CD19+**. Le due linee tracciano i **limiti delle positività, al di sotto sono negative, al di sopra sono positive**. Ci sono un po' di cellule CD3+, che sono normali, la maggior parte delle cellule sono CD3-/CD19+.

Le cellule CD19+ sono anche CD5+ (*secondo riquadro*).

Le cellule sono anche CD23+ (*terzo riquadro*).

Esprimono debolmente le Ig (*primo riquadro, seconda riga*), sono κ+ debolmente (*secondo riquadro, seconda riga*), ma non λ+ (*terzo riquadro, seconda riga*).

[Slide 32]

In citofluorimetria è possibile, sulla base di dove si posizionano nei citogrammi rispetto ai vari antigeni che vengono esplorati le nuvole che si riferiscono alla positività o meno delle cellule, **dire che quelle della leucemia linfatica cronica si differenziano** rispetto ad altri tipi linfomi, alle cellule B normali, a MCL, e così via.

[Slide 33]

Nella leucemia linfatica cronica le cellule che esprimono CD19 o CD20, cioè antigeni a caratterizzazione B (*che vengono ovviamente condivisi da tutte le altre forme, perché sono tutte forme B*). La positività per le Ig è **bassa rispetto a tutte le altre forme**. Il CD5 è sempre espresso, questo **succede solo in un'altra forma che è il linfoma mantellare (MCL)**.

[Slide 34]

La citofluorimetria consente in genere mescolando insieme i dati fisici, relativi alle dimensioni, alla granulosità delle cellule, di separarle in 3 nuvole. Ciascuna di queste nuvole ricomprende i linfociti, i monociti e i granulociti, che poi dal punto di vista immunofenotipico esprimono in condizioni normali CD3, CD20 oppure né CD3 né CD20 perché i monociti non ce l'hanno, ecc.

[Slide 35]

Ecco com'è la storia naturale dei pazienti con leucemia linfatica cronica, o come era. Questo è un lavoro pubblicato nel 1998 sulla principale rivista di ematologia. Tracciando una **linea ideale al 50%**, la mediana di sopravvivenza di un paziente con leucemia linfatica cronica è di **10 anni**: alcuni pazienti muoiono prima, alcuni pazienti muoiono dopo. **Non c'è mai un plateau** che starebbe a significare che i pazienti non muoiono più, perché si tratta per lo più di persone anziane e si muore tutti quando si è vecchi.

Le due linee sono quasi sovrapponibili, **alcuni pazienti non erano mai stati trattati e altri erano stati trattati**, quindi quando è stato fatto questo studio il trattamento non condizionava l'evoluzione in termini di prolungamento della sopravvivenza.

[Slide 36]

⚡ Quali sono i fattori prognostici? Che cos'è che porta ad un'aggressività diversificata fra i diversi pazienti?

⚡ Lo **stadio** avanzato alla diagnosi

⚡ La **presenza o meno di forme immature**

⚡ L'**età più avanzata**

⚡ L'**infiltrazione midollare diffusa**

⚡ **Anomalie citogenetiche** (*p. es. delezione cromosoma 17*)

⚡ **Tempo di raddoppiamento dei linfociti < 6 mesi** (*in alcuni pazienti impiegano anche 4-5 anni*)

⚡ Caratteristiche biologico fenotipiche

Classificazione in stadi [slide 37-38]

Classificazione secondo Rai

ostadio 0: solo linfocitosi

ostadio 1: oltre a linfocitosi anche linfoadenomegalia

ostadio 2: anche epatosplenomegalia

ostadio 3: anche anemia

ostadio 4: anche piastrinopenia

Classificazione secondo Binet [NdR: il prof. sorvola]

ostadio A: < 3 aree linfonodali, NO anemia, NO piastrinopenia

ostadio B: > 3 aree linfonodali, NO anemia, NO piastrinopenia

ostadio C: anemia (<10 g/dl) e/o piastrinopenia (< 100.000/ μ l)

Quindi ancor prima di disporre di indagini sofisticate di tipo biologico, molecolare, citogenetico, sapevamo di poter inquadrare i pazienti, che forse campavano tanto o che forse campava poco, **sulla base di elementi abbastanza semplici.**

Un paziente allo stadio 0 dopo 12 anni all'80% è ancora vivo.

I pazienti che fin dall'esordio hanno uno stadio 3-4 hanno una sopravvivenza più breve, che è al di sotto o attorno all'anno.

[Slide 39]

Ci sono **vari altri marcatori** di tipo citogenetico molecolare che ci consentono di identificare gruppi che danno un'ottima prognosi o una pessima prognosi.

Molto più recentemente un uso combinato di tutte queste informazioni consente di stadificare i pazienti. A seconda che ne abbiano neanche una campano più o meno come la popolazione normale, oppure hanno una prognosi pessima.

[Slide 44]

âžœ Sopravvivenza **variabile da 1 a 15 anni**

âžœ Terapia **non modifica la sopravvivenza**

âžœ **Forma indolente**, speranza di vita inalterata

âžœ **Frequenti infezioni** per via dei deficit immunitari

âžœ Spesso accompagnata da **varie complicazioni**: anemia emolitica autoimmune si verifica nel 15%, piastrinopenia autoimmune, con l'avanzata malattia può svilupparsi insufficienza midollare che si esprime con anemia e piastrinopenia, sindrome di Richter (*ad altro grado di malignità*)

Tipi di trattamento [slide 45-47]

Oggi, dopo trattamenti molto inefficaci usati negli anni, utilizziamo prevalentemente dei trattamenti che comprendono la **fludarabina** e soprattutto gli **anticorpi monoclonali**, uno di questi, il più famoso, si chiama **MabThera (Rituximab)**, è un **anticorpo anti-CD20**, insieme con gli **agenti alchilanti** porta a dei risultati che sono molto promettenti e che lasciano intravedere come vi possa anche essere un vantaggio in termini di sopravvivenza.

Questo è uno studio prospettico controllato in pazienti che hanno ricevuto vari tipi di trattamento... uno di questi comprendeva Rituximab, Flutarabina e Ciclofosfamide e questa è la curva di sopravvivenza, che **mostra un vantaggio** tale per cui a 8 anni c'è un **20% di pazienti vivi che sarebbero morti se avessero fatto un trattamento differente.**

Quindi l'aggiunta del Rituximab alla Flutarabina e alla Ciclofosfamide **migliora decisamente la storia naturale dei pazienti con Leucemia Linfatica Cronica.**

Indicazioni di trattamento [slide 48]

Non vanno trattati tutti e non vanno trattati subito.

Si trattano subito i pazienti in stadio avanzato con sintomi (*sudorazione notturna, calo ponderale, febbre, astenia profonda*), quando vi sia un progressivo aumento di volume dei linfonodi o della milza o del fegato, quando il tempo di raddoppiamento sia inferiore a 6-12 mesi, quando compaiono anemia o piastrinopenia autoimmuni.

Ma nella maggior parte dei pazienti con diagnosi **non si fa nessun trattamento**, si tiene osservato il paziente.

Il trattamento **si instaura quando si sviluppi la situazione.**

È fondamentale avere in mente che questi pazienti sono **immunodepressi e che soprattutto nella stagione invernale possono andare incontro ad infezioni** che devono essere profilassate in modo adeguato con **infusione di Ig** o trattate tempestivamente in caso di infezioni batteriche. Talora bisogna ricorrere subito a supporti trasfusionali quando i segni di insufficienza midollare si esprimono con piastrinopenia e anemia.

[NdR: il prof. mostra un'ultima diapositiva riassuntiva sulle caratteristiche della leucemia linfatica cronica e dice che per quello che riguarda le altre forme linfoproliferative non sarà necessario approfondirle così tanto, forse **la più interessante da vedere è la hairy cell leukemia**]

XX

Lezione di Ematologia del 10/10/2013 (1)

Sbobinatore: Chiara Simonetto

Revisore: Doriana Franch

LEZIONE DI EMATOLOGIA DEL 10/10/13

MALATTIE MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE

(il professore introduce l'argomento trattando due casi clinici, che nelle slide sono indicati come caso 2 e 3)

CASO CLINICO 2

Un maschio di 58 anni insegnante con vita regolare e sempre stato bene, effettua un check up da cui risulta una leucocitosi di 32.000 per microlitro, prevalentemente di neutrofili con alcuni elementi mieloidi immaturi in circolo osservati dal laboratorista che ha refertato l'emocromo. Il numero dei globuli rossi e dell'emoglobina è normale, mentre quello delle piastrine è di 480.000 per microlitro (quindi un valore superiore alla norma). Gli altri esami ematochimici sono sostanzialmente normali.

Lo striscio di sangue periferico mostra un 8% di linfociti (valore normale, corrispondente a circa 2500 linfociti considerando un totale di 30.000 globuli bianchi), i neutrofili sono normali dal punto di vista percentuale ma su 32.000 sono circa 25.000 (*non si capisce bene perchè non conclude, credo intendesse dire che si trovano in grande quantità in questo striscio*), gli eosinofili sono il 2% normali, basofili il 4% (solitamente non si osservano, o se ne osservano pochi, nello striscio di sangue periferico), ed infine gli elementi che solitamente non compaiono assolutamente: blasti degranulati (molto immaturi), promielociti, mielociti, metamielociti e i bastoncelli (la fase differenziativa intermedia pre-neutrofilo tra metamielocita e granulocita maturo).

Viene poi effettuato un altro esame, l'aspirato midollare, che evidenzia nel paziente in questione un midollo "ricchissimo" rispetto alla normalità, e un rapporto tra precursori mieloidi e precursori eritroidi di 9:1, che, considerando il maggior numero di globuli rossi nel sangue rispetto agli elementi mieloidi, potrebbe sembrare un dato anomalo invertito. Tuttavia bisogna considerare che i 4 milioni e mezzo di globuli rossi presenti nel sangue hanno un'emivita di 120 giorni, mentre gli elementi mieloidi (che sono qualche migliaio) solamente 2 o 3 giorni. Per cui se si parla di precursori, è corretto che il rapporto sia a favore di quelli mieloidi rispetto a quelli eritroidi, proprio perchè i globuli bianchi hanno una vita minore di quelli rossi: il rapporto normale però solitamente è di 3:1 o 2:1.

La mielopoiesi (ossia la valutazione della differenziazione mieloide) è maturante, ossia sono presenti sia elementi maturi che immaturi, il che permette l'esclusione di una leucemia acuta, in cui l'aspirato midollare mostra elementi altamente immaturi, e non elementi intermedi di maturazione. Infine vi è un aumento di megacariociti, di solito rari nello striscio di midollo. L'esame obiettivo del paziente mostra 3 cm di fegato debordante dall'arcata costale, fattore anomalo perchè solitamente non sporge, e 4 cm di milza alla palpazione (anche questo fattore è anomalo).

Viene dunque condotta un'indagine citogenetica del paziente che mostra una traslocazione 9-22 e un trascritto Bcr-Abl: si osserva il cromosoma Philadelphia, patognomonico della condizione clinica definita Leucemia Mieloide Cronica (LMC)

CASO CLINICO 3

In questo caso la paziente è una signora di 43 anni, casalinga, che ha subito un'appendicectomia a 13 anni, e da allora è sempre stata bene. Da 4 mesi lamenta un senso di ingombro addominale e digestione difficile, ed un episodio di intenso dolore all'ipocondrio sinistro. Da circa 1 mese astenia, febbricola, sudorazione notturna e dimagrimento: elementi che indicano un qualcosa di serio.

Il medico di base le ha prescritto una terapia ricostituente. Si riscontra poi un'importante splenomegalia, e all'emocromo un'anemia (emoglobina Hb di 9.5 gr/dl), una leucocitosi imponente (globuli bianchi sono 158.000 per microlitro) e una piastrinosi (840.000 per microlitro: più del doppio del range di normalità). Inoltre è presente, un'iperuricemia, ossia un aumento della concentrazione dell'acido urico nel sangue.

Lo striscio di sangue periferico della paziente mostra una prevalenza di neutrofili, basofili all'8%, blasti degranulati (qualcuno in più rispetto al caso precedente), il 5% di promielociti, 4% di mielociti, il 5% di metamielociti e il 4% di bastoncelli. Questi elementi (blasti, promielociti, mielociti, metamielociti e bastoncelli) non si trovano mai nel sangue periferico di una persona normale. L'aspirato midollare è analogo a quello del caso precedente, è ipercellulato, il rapporto mielo-eritroide è molto elevato a favore della componente mieloide, la mielopoiesi è maturante e c'è un aumento dei megacariociti.

Una differenza col caso precedente è una maggior concentrazione di elementi mieloidi immaturi, blasti e promielociti, e di basofili.

Anche l'esame obiettivo è anomalo, con aumento delle dimensioni del fegato e della milza, soprattutto della seconda con un diametro polo-polare di 25-26 cm (normalità è di 9-10 cm), di cui 18 cm nascosti dietro le coste: questa milza peserà 3-4 kg (10-15 volte il normale): questo spiega i sintomi di ingombro addominale e di difficoltà digestive. Inoltre una tale splenomegalia motiva il basso introito di cibo che il soggetto assume per evitare l'ingombro, la posizione per coricarsi sul lato destro, e l'intenso dolore all'ipocondrio sinistro. Spesso in tali situazioni può verificarsi un episodio di infarto splenico per la discrepanza tra l'afflusso irrorativo rispetto alle dimensioni del tessuto.

Il cariotipo della paziente mostra una traslocazione 9-22 e il trascritto ibrido Bcr-Abl: un altro esempio di LMC.

Entrambi i casi clinici hanno mostrato evidenza di LMC, tuttavia è più frequente trovare casi come il primo, in cui il reperto è quasi sempre casuale, a differenza del secondo, in cui si arriva al reperto tramite esami laboratoristici, clinici e diagnostici.

DATI EPIDEMIOLOGICI DELLA LMC

- Molto più frequente nei maschi che nelle femmine, rapporto 1,4/1
- Rappresenta circa il 15-20% delle leucemie dell'adulto
- Nel Veneto si stima che se ne vedano un centinaio all'anno

Le leucemie in genere sono patologie relativamente rare, rappresentano 1/5 rispetto al cancro allo stomaco, circa 1/13 rispetto al carcinoma bronchiale, e sono al 13° posto delle neoplasie del sesso femminile.

La LMC è nota già da moltissimo tempo: si annovera la prima descrizione di LMC, riferita al caso di un fioraio francese di 63 anni che aveva febbre, astenia, massiva epatosplenomegalia, e il cui sangue veniva descritto come purulento e biancastro (*digressione*: se si deposita in una provetta con anticoagulante eparinico il sangue di un paziente e lo si lascia sedimentare, i globuli rossi vanno a fondo e sopra rimane una piccola porzione bianca, il cosiddetto "buffy coat", che nel paziente era espanso enormemente. Ecco perchè appariva come pus). Tuttavia non erano presenti cause infettive evidenti, e questo caso venne pubblicato per la prima volta nel 1827, per poi essere ripreso nel 1845. Un secondo caso "storico" racconta di una casalinga francese di 44 anni che presentava un tumore in ipocondrio sinistro che scendeva fino alla fossa inguinale. Più della metà delle cellule del sangue era costituita da quelli che venivano definiti "globuli mucosi".

La LMC non è la più frequente tra le varie patologie mieloproliferative croniche, ma di sicuro la più interessante. Le altre comprendono:

- Policitemia vera (PV)
- Mielofibrosi idiopatica (MF)
- Trombocitemia essenziale (TE)

In realtà non esistono solo queste entità classificative, gli esperti riconoscono infatti anche altre forme "minoritarie":

- Leucemia Mielogena Cronica
- Policitemia vera
- Mielofibrosi primaria
- Trombocitopenia essenziale

Infine, sono presenti anche una forma neutrofilica, una leucemia cronica eosinoflica non altrimenti specificata, la mastocitosi con la sua forma sistemica (espressione anomala ed espansione clonale di mast cells) e altre forme miste che sono le malattie mieloproliferative croniche non classificate (NAS= Not Otherwise Specified).

DISTRIBUZIONE PER CLASSI DI ETÀ DELLA LMC

Colpisce tutte le fasce di età, con una prevalenza delle età medie (tuttavia colpisce sia le fasce più giovani, addirittura bambini molto piccoli, che quelle più anziane, con caratteristiche cliniche lievemente diverse).

CAUSE DELLA LMC

L'eziopatogenesi è sconosciuta, ma sono presenti dei fattori predisponenti scientificamente provati:

- le radiazioni ionizzanti (durante la fine della seconda guerra mondiale l'esplosione delle bombe atomiche di Hiroshima e Nagasaki ha determinato un ampio aumento, nel periodo successivo, di varie forme tumorali, e anche della LMC. Più recentemente è stata osservata anche un'aumentata incidenza della patologia nei confronti dei radiologi nell'epoca pre-misure di sicurezza, e in pazienti con spondilite anchilosante, un'inflammazione articolare, sottoposti a radioterapia come soluzione analgica)

-il gene chimerico Bcr-Abl (traslocazione 9-22) che dà forma al cromosoma Philadelphia, il quale determina la trascrizione di una proteina ad attività tirosin chinasi che ha molteplici effetti: determina la disregolazione della proliferazione cellulare (alterazioni della trasduzione dei segnali, inibizione dell'apoptosi, riduzione dell'adesione dei precursori emopoietici allo stroma). La prova provata di tutto ciò è stata la creazione di un topo chimerico che sviluppava una forma simile alla LMC umana.

Bcr/Abl, attraverso vari passaggi e coinvolgendo nella cascata delle attivazioni tirosin chinasiche Ras, induce uno stimolo che porta alla proliferazione, ad una diminuzione dell'adesione alla matrice del midollo osseo, all'inibizione dell'apoptosi e all'instabilità genomica.

CIRCOSTANZE DI DIAGNOSI (*osservate precedentemente nei casi clinici*)

Molto spesso è possibile fare diagnosi dagli esami del sangue, considerando che la LMC essendo una forma cronica inizialmente non dà sintomi: l'esame emocromocitometrico mostra leucocitosi. Alternativamente è possibile la diagnosi dall'esame obiettivo dove si denota splenomegalia, oppure un insieme di sintomi aspecifici può suggerire LMC (astenia, febbre, anoressia e conseguente calo ponderale che per essere significativo deve corrispondere ad una perdita del 10% del peso corporeo abituale, sudorazioni notturne molto abbondanti), sintomi da ingombro addominale per splenomegalia, sintomi legati all'anemia (diminuita concentrazione di emoglobina che trasporta l'ossigeno, e dunque stanchezza e affaticamento, ossia l'impossibilità di svolgere i compiti quotidiani, difficoltà digestive), sintomi da alterata conta piastrinica (con una piastrinosi importante oltre 1 milione o piastrinopenia, rispettivamente si possono manifestare tromboflebiti o sintomi emorragici), sintomi da rallentamento del circolo nelle grandi leucocitosi (aumenta la viscosità del sangue, il che porta a riduzione dell'ossigenazione, e conseguenti disturbi uditivi e visivi), infine dolori ossei legati alla tensione endo-ossea che porta allo stimolo delle terminazioni dolorifiche dovuta all'enorme

proliferazione di globuli bianchi all'interno del midollo osseo, attacchi gottosi (*il professore li definisce come dolori acuti dovuti all'accumulo di gotta nelle articolazioni, soprattutto del piede: meglio indicarli come accumuli di cristalli di acido urico*).

EMOCROMO DI UN PAZIENTE TIPICO AFFETTO DA LMC

Lo striscio di sangue periferico di soggetti normali solitamente mostra tanti globuli rossi e pochi bianchi (10-20 per campo). Un paziente affetto da LMC presenta uno striscio ricco di globuli bianchi, ossia cellule colorate con nucleo, che sono granulociti neutrofili, bastoncelli, mielociti, promielociti e varie cellule in fasi intermedie di maturazione (alcune francamente immature, con nuclei grandi e cromatina poco differenziata).

I globuli rossi sono pochi (il paziente si desume essere anemico), la leucocitosi è variabile (oltre 200.000 per microlitro nell'esempio di striscio in questione) con prevalenza di neutrofili ed elementi mieloidi in varie fasi maturative; vi è un aumento dei basofili; una piastrinosi nel 40% dei casi; la piastrinopenia è molto più rara; l'anemia è di solito incostante, e la si trova nelle forme più rare, perchè in tali casi la splenomegalia determina distruzione degli eritrociti.

Se si osserva un'istogramma (*indicato a pag 29 delle slide, titolato "LMC reperti diagnostici"*) sulla composizione della leucocitosi, si osserva una netta prevalenza di quella neutrofila, seguita da quella di mielociti, di promielociti, di basofili, di eosinofili, di blasti ecc. Quindi sono rappresentate le varie forme maturative mieloidi, con una netta prevalenza dei granulociti.

Una leucocitosi di questo tipo, prevalentemente neutrofila, ma con elementi immaturi, è diagnostica sempre e solo di leucemia mieloide cronica? Quasi sempre sì, ma è utile tenere a mente che esistono altre condizioni che possono associarsi ad una leucocitosi neutrofila, che solitamente si accompagna alla presenza di soli granulociti neutrofili e pochi elementi immaturi. Nelle cosiddette reazioni leucemoidi, che possono portare sulla falsa strada, ci possono essere elementi immaturi e un aumentato numero di piastrine (ad esempio si verificano nelle grandi tossinfezioni in pazienti ustionati).

Ricapitolando, si dovrebbe porre analisi differenziale con **leucocitosi reattive di altra natura** (le precedenti) e **altre malattie mieloproliferative croniche**, tra cui la policitemia vera (con aumento dei globuli bianchi, ma anche dei globuli rossi), la mielofibrosi idiopatica (anche questa con aumento di globuli bianchi, e differenziabile dalla LMC per l'anisopoichilocitosi, ossia la diversità di dimensione e volume dei globuli rossi, caratterizzata da marcatissima splenomegalia, e da fibrosi midollare così marcata da rendere impossibile l'effettuazione dell'aspirato midollare, fibrosi midollare che porta alla cosiddetta "punctio sicca"), e la piastrinosi idiopatica o trombocitemia essenziale (caratterizzata da un elevato aumento della concentrazione piastrinica, che talora può accompagnarsi anche ad un modesto aumento dei globuli bianchi).

Ciò che differenzia tutte le precedenti forme mieloproliferative croniche dalla LMC è il fatto che sono Philadelphia negative (Ph⁻), non hanno quindi la traslocazione 9-22, nè la forma Bcr-Abl.

REPERTI DIAGNOSTICI DELLA LMC

- Leucocitosi neutrofila (*di cui si è già parlato precedentemente*)
- Midollo ipercellulato (senza spazio tra cellula e cellula) con aumento del rapporto mielo-eritroide
- Cromosoma Philadelphia
- Bcr-Abl

IL CROMOSOMA PHILADELPHIA

E' presente in tutti i casi di LMC. L'evidenza si acquisisce o dall'indagine cito-genetica, o da quella genetico-molecolare. La traslocazione avviene tra un pezzo del cromosoma 9 e un pezzo del 22, con formazione di un piccolo cromosoma (il Philadelphia appunto). E' un'alterazione acquisita

(non è ereditaria, perchè le cellule somatiche non hanno questo tipo di alterazioni, spermatozoi ed ovociti non sono mutati - *discorso un pò confuso*), è tuttavia un'acquisizione molto a monte rispetto alla linea differenziativa, per cui sarà presente sia nelle cellule della linea mieloide, che eritroide, che megacariocitaria, che in alcuni linfociti B e T.

Quindi, i due pezzi del cromosoma 9 e 22 si fondono reciprocamente, danno origine ad un RNA che è il prodotto di Bcr-Abl, che a sua volta determina la produzione di una proteina anomala.

La traslocazione cromosomica 9-22 avviene a livello di una cellula staminale totipotente che porta all'espansione clonale, da cui avranno origine i progenitori delle linee megacariocitaria, mieloide ed eritroide (tutti portanti il cromosoma Philadelphia).

STORIA E DECORSO CLINICO

Si parlerà ora di storia naturale e decorso clinico della LMC, ma si deve tenere in considerazione che questi due aspetti caratterizzano un'epoca ormai passata da una decina di anni: al giorno d'oggi le cose sono cambiate. Sono (*meglio dire quindi erano*) presenti varie fasi:

- **fase pre-clinica:** asintomatica e colta solo in rari casi (durante emocromi svolti per altre motivazioni), ha durata variabile, leucocitosi modesta, assenza di splenomegalia e un ridotto numero di metafasi Philadelphia positive (PH⁺)
- **fase cronica:** viene colta nella maggioranza dei casi dei pazienti affetti da LMC. Nei pazienti che fino ad una decina di anni fa non venivano trattati o dove comunque il trattamento non era adatto, questa fase aveva una durata variabile di 1-10 anni (in media 5), con morte della maggioranza dei pazienti.
- **fase accelerata:** motivava un tempo la morte seguente la fase cronica. Aveva durata variabile ma sempre minore di 1 anno; non era più possibile il controllo con i vari farmaci del numero dei globuli bianchi, che salivano senza possibilità di farli

scendere; si accentuavano (se non erano presenti prima) l'anemia, la piastrinopenia e i segni sistemici. Tutto ciò era associato ad un aumento della componente blastica, di quella basofilica e ad un'ulteriore splenomegalia.

– **fase blastica:** è il quadro vero e proprio di Leucemia Acuta, una situazione drammatica, caratterizzata da una splenomegalia imponente, da insufficienza midollare e conseguente anemia e neutropenia importanti, alterazioni citogenetiche aggiuntive e un decorso rapido e fatale, non influenzato dai trattamenti. La fase (detta anche crisi) blastica può essere di tipo **mieloide** o **linfoide** (più rara), con una sopravvivenza media in cui la malattia diventa crisi blastica di 3-6 mesi.

Il percorso clinico di fase cronica+fase blastica ha una durata media di circa 5 anni. Tutto ciò avviene perché l'infiltrazione midollare di elementi Philadelphia positivi è all'inizio relativamente piccola e si espande poi nel tempo: nella fase pre-clinica la componente del midollo è prevalentemente normale, e poi, soprattutto da quando avvengono delle alterazioni citogenetiche aggiuntive rispetto al solo cromosoma Philadelphia, si verifica una progressione anche dal punto di vista clinico, delle fasi avanzate di malattia, e si moltiplicano a dismisura le alterazioni cito-genetiche molecolari (per accumulo di difetti genetici addizionali).

STORIA DEL TRATTAMENTO DELLA LMC

La storia terapeutica della LMC parte da lontano, alla fine dell' '800, con l'arsenico, che non è solo un veleno ma anche un farmaco utilizzato al giorno d'oggi in combinazione con una vitamina, l'acido trans-retinoico, per il trattamento della Leucemia Acuta Promielocitica (che un tempo portava a morte nel 100% dei casi).

Oltre all'arsenico veniva utilizzata anche l'irradiazione splenica, successivamente il Busulfano e l' Idrossiurea, poi fu introdotto il trapianto allogenico di midollo osseo e più tardivamente l'impiego dell' IFN alpha (con complicanze simil influenzali, poco tollerate dai pazienti). Alla fine degli anni 2000 sono stati introdotti i nuovi farmaci, ora terapia d'elezione: Imatinib, Dasatinib, Nilotinib, che sono inibitori tirosin chinasi, e agiscono sulla proteina frutto di Bcr-Abl bloccandone appunto l'attività tirosin chinasi e conseguentemente arrestando la progressione della patologia.

(Viene ora illustrato un grafico a pag 32 delle slide, sugli esiti della LMC in 52 pazienti non trattati):

Nel 1924 l'andamento di LMC in pazienti non sottoposti a trattamento, prevedeva la morte della metà dei pazienti entro 3 anni. Studi più recenti, fino a 30 anni fa, su pazienti trattati con alcuni farmaci, comunque prevedevano morte della metà di loro, questa volta però entro 10 anni. Si ottenevano effetti maggiori con il trapianto di midollo osseo, a quel periodo effettuato solo tra fratelli HLA identici (ai nostri giorni invece le fonti di trapianto sono più comunemente donatori in registro compatibili): circa la metà dei pazienti riceventi il trapianto dal fratello HLA identico moriva per complicazioni da trapianto, mentre una fetta di pazienti che venivano trapiantati abbastanza precocemente guarivano. Alla fine i pazienti che potevano trarre giovamento dal trapianto allogenico di midollo erano veramente pochi, meno del 10%.

La diversità di sopravvivenza era determinata da varie caratteristiche cliniche, che hanno portato oggi a dei criteri classificativi prognostici che tuttora vengono utilizzati per la pianificazione terapeutica.

Ritornando ai **farmaci** utilizzati, i principali sono inibitori tirosin chinasi. Il dominio chinasi normalmente attiva un substrato che porta ad un signalling che culmina nella proliferazione cellulare. Che cosa succede quando utilizziamo gli inibitori chinasi? I farmaci occupano la tasca di legame dell'ATP del dominio Abl, e questo impedisce al substrato di dare il via, attraverso la fosforilazione, al signalling che porta alla proliferazione cellulare. L' **Imatinib** quindi va ad interferire là dove dovrebbe legarsi l'ATP. Di conseguenza non si verificherà l'attivazione di Ras, la proliferazione cellulare diminuirà, si ridurrà l'adesione alla matrice, ecc. Le cellule dunque possono morire.

All'indagine cito-genetica si osserverà la scomparsa del cromosoma Philadelphia, fino alla totale scomparsa di qualsiasi traccia molecolare del trascritto.

Valutando poi la PFS (*progression ... survival, non si capisce*), il 90-85% dei pazienti a 5 anni sta bene. Inoltre la sopravvivenza globale dopo 5 anni è arrivata al 95% (non si può andare oltre ai 5 anni semplicemente perché non ci sono dati visto che i trial clinici con Imatinib sono troppo recenti). I pazienti devono quindi continuare a prendere il farmaco, che è ben tollerato, e le prospettive di controllo della malattia sembrano poter essere durature.

Si ricorda che ciascun paziente in terapia con Imatinib costa in media 30.000 euro all'anno. Le aziende farmaceutiche stanno sperimentando anche farmaci di seconda generazione efficaci anche nel caso in cui insorgano mutazioni puntiformi che rendano le cellule resistenti ai farmaci di prima generazione. (si pensi che su 150 pazienti seguiti il 40% è in terapia con farmaci di seconda generazione).

Il professore fa un altro esempio di terapia: nella LEUCEMIA A CELLULE CAPELLUTE (HAIRY CELL LEUKEMIA) esiste una piccola porzione di pazienti che ad un certo punto perde la risposta al farmaco. In questi casi la malattia si sviluppa perché avviene una mutazione a carico del gene b-Raf, ed è stato costruito dalle case farmaceutiche l'inibitore di b-Raf, un nuovo farmaco molto efficace.

ALTRE PATOLOGIE MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE: LA POLICITEMIA VERA

La Policitemia Vera è un'altra patologia mieloproliferativa cronica, clonale e neoplastica, caratterizzata da un aumento della massa eritrocitaria e conseguente aumento dell'ematocrito (ossia il volume occupato dai globuli rossi).

La causa è sconosciuta, probabilmente esistono dei fattori genetici perché si osserva una certa familiarità, ed è una malattia rara (1/100.000 abitanti all'anno) appannaggio dell'età adulta (dai 20-25 anni in su).

Dal punto di vista clinico, c'è un periodo molto lungo di asintomaticità, con una modesta poliglobulia (ossia l'aumento del numero dei globuli rossi), piastrinosi e splenomegalia, che con il passare degli anni diventano sempre più evidenti. Col tempo, l'aumento della poliglobulia determina un aumento della massa circolante, e una conseguente iperviscosità, la quale è causa di sintomi come: prurito (soprattutto dopo un bagno caldo), cefalea e vertigini per minore afflusso del sangue a livello arterioso e venoso, il quale determina anche disturbi visivi, acufeni, parestesie, sudorazioni e vari altri disturbi. L'entità dei sintomi è correlata con l'entità della poliglobulia, cioè del numero dei globuli rossi.

Quindi dal punto di vista fisiopatologico: aumento dell'ematocrito → aumento della massa eritrocitaria → aumento del volume totale del sangue → aumento della viscosità e rallentamento del circolo → diminuzione dell'ossigenazione tissutale e facilità di trombosi (soprattutto se tutto ciò si accompagna ad aumento della conta piastrinica).

Un paziente affetto da PV si denota per la presenza di una faccia arrossata, cianosi periferica frequente (*N.B. DOMANDA DEL PROF: è più facile che sviluppi cianosi periferica un paziente anemico o poliglobulico? Il paziente poliglobulico, perchè la frazione di emoglobina ridotta è costante, e se è ad esempio su 10g di emoglobina, è poca, se è su 20g è molta – riporto testuali parole*) legata al rallentamento del circolo e ad un'aumentata estrazione di ossigeno a livello locale, con un aumento dell'emoglobina ridotta.

Gli esami strumentali sono atti alla determinazione della massa sanguigna; si deve poi tener conto dell'ossimetria, ovvero la concentrazione di ossigeno, e di altre indagini per escludere secondarietà (sono molte infatti le condizioni che possono accompagnarsi a poliglobulia).

Gli esami di laboratorio mostrano valori di emoglobina molto elevati (18-25 gr/dl), e anche di ematocrito (60-75%): il paziente in questione è a rischio di accidenti vascolari. Il MCV è spesso ridotto per iposideremia da perdite croniche e da aumentato fabbisogno per eritropoiesi. Si può notare poi una leucocitosi moderata, una piastrinosi anche questa media, una viscosità molto alta, l'eritropoietina (EPO) sierica è normale o ridotta e l'uricemia risulta spesso aumentata.

È importante ricordare che la poliglobulia non è indice necessariamente di Policitemia Vera. Ci possono infatti essere varie cause di aumento dei globuli rossi, classificabili entro i 4 seguenti criteri:

-**Eritrocitosi relative o spurie:** osservabili analizzando un emocromo dopo una corsa (con ingente sudorazione), e durante i casi di shock, o dovute ad una lieve diminuzione del volume plasmatico con massa eritrocitaria ai limiti superiori (eritrocitosi da stress).

-**Eritrocitosi assolute :**

1. **forme da produzione appropriata di EPO:** si osservano con l'altitudine (a motivo della ridotta tensione di ossigeno aumentano i livelli di emoglobina, con un maggior apporto di ossigeno ai tessuti), in cardiopatie cianogene, in emoglobinopatie che aumentano l'affinità per l'ossigeno e in casi di intossicazione da CO.
2. **2. forme da produzione inappropriata di EPO:** nefropatie, tumori extra-renali e malattie endocrine. Alcune delle precedenti forme di aumento di eritropoietina sono state correlate di fatto a poliglobulia.

-**Policitemia Vera:** non trova spiegazione in un aumento dei livelli di EPO.

Nella diagnosi differenziale è dunque fondamentale il disaggio di EPO per distinguere la PV dalle altre forme di poliglobulia.

La terapia è indispensabile, perchè senza trattamento la sopravvivenza è inferiore ai 3 anni per complicanze trombotiche ed emorragiche. L'obiettivo della terapia è quello di ridurre il numero dei globuli rossi, per ridurre la massa circolante e diminuire la viscosità, e di conseguenza le complicanze trombotiche (ictus, infarto, ecc). Si persegue questo obiettivo sottraendo globuli rossi tramite i salassi, che sono rimasti nell'epoca degli inibitori delle tirosin chinasi una manovra terapeutica grossolana ma molto efficace. È fondamentale infine mantenere l'ematocrito sempre inferiore a valori al 45%.

Lezione di Ematologia del 17/10/2013 (1)

Lezione di Ematologia del 17/10/2013

Prof. **Giovanni Pizzolo**
Sbobbinate: **Sartorelli Marianna**
Revisore: **Ekinde Sean**

ALTRE PATOLOGIE MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE: LA POLICITEMIA VERA
(continuazione argomento della lezione precedente, *POLICITEMIA VERA, Ndr*)

Quello che bisogna fare nella policitemia vera perché il paziente che ne è affetto abbia una vita sostanzialmente normale in termini di durata (che succede per la maggior parte dei pazienti) è ridurre la massa circolante.

Per ridurre la massa circolante è usata da sempre la salasso-terapia, cioè una sottrazione di sangue, quanto serve per portare l'ematocrito sotto il 45% (questo è oggi il valore condiviso) o comunque esso non deve mai superare il 50%. Qualche volta non ci si riesce solo con i salassi e allora si utilizzano dei farmaci che sono ben tollerati e non hanno effetti a lungo termine, come l'idrossiurea.

In seguito alla sottrazione di sangue, si instaura una sideropenia la quale, dato che il ferro è importante per la sintesi dell'emoglobina, porta a un rallentamento della proliferazione (*cellulare, Ndr*) e quindi anche a un rallentamento nella necessità di salassi.

La carenza di ferro porta a una diminuzione del volume corpuscolare medio (MCV) per cui tutti i pazienti che vanno incontro a una salasso terapia sviluppano una microcitosi, cioè una diminuzione del volume delle emazie.

MIELOFIBROSI IDIOPATICA

E' una malattia che colpisce in età matura, prevalentemente i maschi, ma si vede anche nelle femmine. E' caratterizzata da una marcata fibrosi midollare che intrappola i progenitori dei globuli rossi, dei globuli bianchi e delle piastrine in una rete a maglie più o meno strette a seconda del momento evolutivo della malattia. Quando si cerca di praticare un aspirato midollare in un paziente affetto da mielofibrosi idiopatica non si riesce a prelevare il consueto sangue con frustoli, è la cosiddetta "punctio sicca" o dry tap. E' presente spesso una mielema, cioè presenza di elementi mieloidi ed eritroidi immaturi nel sangue circolante (non è così rilevante come quella che si vede nella leucemia mieloide cronica).

Assolutamente caratteristica e presente in tutti i pazienti a cui è diagnosticata una mielofibrosi idiopatica, è un'importante anisopoichilocitosi dei globuli rossi, cioè differenza di volume e di forma.

Sempre caratteristico della mielofibrosi idiopatica è un meccanismo di compensazione della mitopoiesi da parte di quegli organi che sono deputati a tale scopo nella vita fetale e quindi c'è la presenza di infiltrati mieloidi (una metaplasia mieloide) a livello splenico e a livello epatico, ma soprattutto splenico. Questo è il motivo per cui, con il passare degli anni (questa è una malattia che ha la sua storia naturale che può variare da paziente a paziente, mediamente dura 5/6 anni ma può durare anche molto di più) si sviluppa una splenomegalia che spesso diventa il disturbo più importante per il paziente a motivo dell'occupazione dello spazio, ma non solo.

I sintomi sono caratterizzati da:

-ingombro addominale;

-astenia (legata soprattutto all'anemizzazione) che è una costante in questi pazienti;

-dispnea, cioè difficoltà respiratoria, legata non solo all'anemia ma anche al fatto che il grosso volume della milza (che può arrivare a pesare 4 o 5 kg in questi pazienti) impedisce un'escursione respiratoria adeguata per innalzamento del diaframma.

La **diagnosi** si basa sulla presenza di questi elementi: l'anemia, l'anisopoichilocitosi, la leucocitosi, nelle fasi avanzate la leucopenia, la trombocitosi, cioè aumento del numero delle piastrine (ma talora nelle fasi avanzate ci può essere trombocitopenia), ma soprattutto la fibrosi midollare che può essere documentata con la biopsia osteomidollare.

Il decorso è cronico.

(mostra una slide con immagini di biopsia osteomidollare nelle varie fasi della malattia) Dalla biopsia osteomidollare si può evidenziare la presenza di anisopoichilocitosi, la presenza di dacriociti, cioè globuli rossi a lacrima, più grandi, più piccoli, talora qualche schistocita, elementi più piccoli ed elementi più grandi.

L'anisopoichilocitosi è un elemento assolutamente caratteristico.

Qui ci sono varie fasi della malattia. La fibrosi, che viene evidenziata con colorazioni particolari, arriva nelle fasi terminali della malattia a sostituire completamente la matrice ossea, ma anche nelle fasi precedenti c'è un progressivo accumulo della componente fibrotica che è legata a un "perverso meccanismo" che vede coinvolti soprattutto (???)

(mostra una slide con immagine di una biopsia osteomidollare) Questa è una biopsia osteomidollare. Questo reticolo, questa è ematosilina eosina in un paziente normale mentre questa è circa l'aspetto che ha l'istologia macroscopica di una biopsia ossea, che si esegue dalla spina iliaca posteriore con uno strumento che non è molto diverso da quello che si usa per "l'assaggio del grana", cioè una carota delle dimensioni di 2,5/3 cm. (*specifica che il prof. Vinante terrà una lezione sulle tecniche Ndr*).

Il tessuto viene sezionato, colorato e cementato con vari tipi di anticorpi monoclonari per definire le varie popolazioni.

TROMBOCITEMIA ESSENZIALE

E' una malattia mieloproliferativa non molto frequente che è caratterizzata dall'incremento numerico delle piastrine. Il termine "essenziale", mutuato quasi dall'antichità, significa che non se ne conosce, o meglio, non se ne conosceva la ragione, o meglio che non è legata a cause reattive. E' una malattia dai contorni assai sfumati rispetto alle altre malattie mieloproliferative croniche. E' piuttosto rara, è caratterizzata da un'importante piastrinosi (circa 7/800000 piastrine ma in alcuni casi si arriva fino a un milione e mezzo, due milioni).

La **diagnosi** arriva per esclusione soprattutto delle altre possibilità. Tra queste va considerato il fatto che in una persona che magari in seguito a un incidente stradale sia stata sottoposta a splenectomia, c'è sempre una conta aumentata di piastrine. La milza "fa pulizia" nel nostro organismo e nel momento in cui non c'è più condiziona un posizionamento più alto dei valori.

Malattie infettive acute e croniche, soprattutto gravi suppurazioni da TBC, possono accompagnarsi a un'aumentata conta piastrinica, così come gravi traumatismi, interventi chirurgici, emorragie acute, etc.

Ci sono anche altre neoplasie che si accompagnano a piastrinosi, anche la sideropenia severa, ma in tutte questi casi che non sono trombocitemia essenziale le piastrine raramente superano 500000.

E poi naturalmente va considerata la trombocitemia in varie fasi nel corso di leucemia grave cronica, mielofibrosi idiopatica e policitemia vera, che pure, in alcune occasioni, possono accompagnarsi a una piastrinosi.

I **sintomi** sono legati a emorragie spontanee e/o provocate, echimosi, emorragie da epistassi o da estrazioni dentali, etc.

Può sembrare strano che con così tante piastrine ci siano fenomeni emorragici, ma in realtà sono piastrine poco efficienti.

Ma talora la piastrinosi, quando raggiunga valori estremi, nonostante la scarsa efficienza funzionale delle piastrine, può associarsi a trombosi che, in zone particolarmente delicate, come il cuore o le coronarie o a livello cerebrale, possono portare a danni irreversibili.

All'obiettività possono esserci o no segni di emorragia (non ci sono mai petecchie e queste sono invece una caratteristica importante delle piastrinopenie, soprattutto della leucemia acuta). La splenomegalia se è presente, è quasi sempre lieve.

Il laboratorio mostra un'importante piastrinosi, che può arrivare fino a 3 milioni/microLitro e, se guardiamo lo striscio di un paziente con piastrinosi idiopatica, vediamo degli ammassi di piastrine piuttosto evidenti.

Frequentemente si associa (o può associarsi) a un'anemia sideropenica, a motivo di croniche perdite a livello gastrointestinale e talvolta c'è un po' di leucocitosi.

L'aspirato midollare che non sempre, per altro, è indispensabile, mostra un'aplasia della serie eritrocitaria.

(slide) Questo è uno striscio periferico di un paziente con piastrinosi idiopatica. Vedete quante siano le piastrine. Ricordatevi: i globuli rossi sono milioni mentre le piastrine sono centinaia di migliaia, mentre qui vedete che sono quasi lo stesso numero.

La biopsia osteomidollare può mostrare tutta questa grande quantità di precursori piastrinici e megacariociti in varie fasi di maturazione.

L'evoluzione è cronica e rara è l'evoluzione in mielofibrosi e leucemia acuta.

La **terapia** è finalizzata, oltre certi valori che vengono situati attorno al milione, a riduzione della piastrinosi utilizzando vari tipi di farmaci e poi, comunque, antiaggreganti piastrinici.

RIEPILOGO MALATTIE MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE

Cerchiamo di fare una sintesi di ciò che abbiamo visto riguardo le malattie mieloproliferative croniche:

- Interessamento di tutte le linee e un evento proliferativo precoce nella differenziazione, anche se prevale a seconda della malattia una serie sulle altre (nella mieloide cronica la serie mieloide, nella mielofibrosi la serie megacariocitica e la fibrosi, nella policitemia vera la serie eritroide, nella trombocitemia essenziale la serie ??).
- C'è un assenza di blocco maturativo cioè c'è la normale capacità differenziativa
- Origine clonale
- La fibrosi midollare è variabile, di regola obbligatoria nella mielofibrosi ma può esserci in varia misura anche in qualcuna delle altre forme
- La emopoiesi extramidollare, che è una delle caratteristiche della mielofibrosi, talora può essere condivisa da qualcuna delle altre forme
- C'è in alcune situazioni di più (la mielofibrosi idiopatica), in altre di meno (per esempio la trombocitemia essenziale) un evoluzione in leucemia acuta
- I sintomi soggettivi e i reperti obiettivi sono spesso simili ma sono dominati dalla splenomegalia importantissima, come appunto nella mielofibrosi idiopatica.

Abbastanza recentemente, nell'ambito delle malattie mieloproliferative croniche (NON leucemia mieloide cronica) è stata dimostrata una particolare mutazione e cioè la mutazione JAK2 definita come V617F (janus kinase 2 è una molecola coinvolta nel signalling dell'eritropoietina).

E' un tipo di mutazione che viene condivisa dalle varie forme di mieloproliferative croniche che non siano la leucemia mieloide cronica. Infatti è provata non solo nella policitemia vera ma anche in corso di mielofibrosi idiopatica e in corso di trombocitemia essenziale. E' una scoperta del 2005, è una cosa che fa parte ormai della routine diagnostica di queste forme, cioè richiedere al laboratorio di cercare quando abbiamo questo sospetto la mutazione JAK2.

Attorno agli anni 2005 sono uscite le prime statistiche che hanno dimostrato come la frequenza della mutazione fosse quasi tutti i casi o comunque la stragrande maggioranza della policitemia vera e quasi la metà delle altre forme, con qualche variazione tra casistica e casistica.

Quali sono le caratteristiche distintive (delle forme mieloproliferative croniche, Ndr)? Traslocazioni geniche che portano tutta una serie di condizioni.

Nella leucemia mieloide cronica ho soprattutto aumento di linfociti. Nella mielofibrosi idiopatica soprattutto fibrosi, nella policitemia vera soprattutto eritrocitosi e nella trombocitemia essenziale la piastrinosi.

Nella leucemia mieloide cronica c'è una grande rappresentanza di forme immature in circolo nelle varie fasi di maturazione, la presenza al cromosoma Philadelphia della traslocazione Bcr/ABL e l'evoluzione obbligatoria in crisi blastica in tutti i pazienti se noi non interveniamo con i trattamenti.

Nella mielofibrosi idiopatica l'anisopoichilocitosi dei globuli rossi, leucocitosi modesta, la splenomegalia è massiva e spesso si accompagna anche a un certo grado di piastrinosi.

Nella policitemia vera, quando vi capiterà di vedere un paziente lo vedrete rosso in faccia, c'è una ?? Importante, un aumento della massa circolante, aumento della viscosità del sangue, rallentamento del circolo e complicanze trombotiche emorragiche e il prurito, che spesso devasta queste persone soprattutto dopo aver fatto la doccia calda. (tant'è che puzzano perché non si lavano perché la doccia o il bagno scatenano un prurito insopportabile).

LEUCEMIE ACUTE

(prof'fa una digressione sul reparto di ematologia di Verona dove su 18 letti circa 12 sono leucemie acute. Sono pazienti che necessitano di cure che durano mesi con degli intervalli e vengono collocati in strutture particolari, come le ematologie, ma non tutte perché servono particolari attrezzature e preparazione del personale).

Caso clinico: maschio di 38 anni, un figlio di 2 anni, sportivo, sempre bene, ha giocato una partita di tennis 5 giorni prima dei sintomi che lo hanno portato al pronto soccorso.

Questa è una cosa che bisogna tenere presente: le leucemie acute e soprattutto certe forme di leucemie acute esordiscono in questo modo, una persona sta bene e dopo una settimana sta male da morire.

(parla del caso di un giocatore della Juventus in cui l'esordio della leucemia era stato estremamente repentino).

Comparsa improvvisa di malessere, febbre, macchioline rosso-violacee alle braccia e al tronco. Si rivolge al pronto soccorso e l'esame obiettivo evidenzia petecchie diffuse, una radiografia al torace con focolai broncopneumonici al campo polmonare medio. Emocromo mostra citopenia per l'emoglobina 10,5 g/dl, una piastrinopenia importante (14000 piastrine per microlitro) e una leucocitosi (38000 globuli bianchi).

L'ematologo viene chiamato al pronto soccorso per una consulenza, fa uno striscio di sangue periferico che evidenzia che la citopenia non è solo per le piastrine non è solo per i globuli rossi ma è anche per i globuli bianchi "quelli buoni": i neutrofili sono il 2%, ciò significa che ha 6/700 granulociti. I linfociti sono il 6%, ma soprattutto c'è una componente importante di elementi grandi immaturi che vengono definiti da chi li vede **BLASTI GRANULATI**.

(slide con foto dei blasti granulati) Come definireste queste cellule? Questo è uno striscio di sangue periferico, non avete mai trovato queste cellule in condizioni normali: sono elementi molto grandi, mononucleati, chiaramente immaturi per le caratteristiche della cromatina e per la presenza di chiari evidenti nucleoli, e la presenza di moltissimi granuli nel citoplasma. La presenza di granuli azzurrofilo è utilissima per definire quelle cellule come cellule di natura mieloide. Vedete questa formazione che va sotto il nome di corpo di Auer? Questa formazione è assolutamente caratteristica delle leucemie acute mieloidi.

Viene posta diagnosi di leucemia acuta e il paziente viene ricoverato immediatamente in ematologia.

All'accertamento diagnostico viene confermata la diagnosi, viene definita AML (acute myeloid leukemia) M2. E' un criterio morfologico classificativo che si richiama a una classificazione ormai datata, ma sempre usata, FAB (*franco-americano-britannica*), perché gli specialisti che l'hanno definita provenivano da quei paesi). M sta per mieloide e il 2 è per differenziarla dalle altre tipologie.

Viene posizionato un CVC (catetere venoso centrale). In questi pazienti è importante avere l'accesso venoso efficace che consenta di somministrare farmaci e far prelievi e per poter far fronte alle complicanze infettive che sono in agguato in ogni momento e in quelle situazioni si possono verificare condizioni di shock ipovolemico che possono portare alla necessità di introdurre grandi quantità di liquidi.

Vengono messi gli antibiotici e il paziente viene trattato e gli viene dato l'allopurinolo, che è un antiuricemico che blocca la trasformazione tra ipoxantina e xantina e quindi blocca l'enzima xantina ossidasi. Dopo due giorni inizia un ciclo di chemioterapia secondo lo schema 3 +7 che significa che per 3 giorni viene dato un certo farmaco e per gli altri 7 giorni un altro farmaco.

Questo caso è abbastanza paradigmatico e ci consente di riassumere alcuni punti fondamentali nel campo delle leucemie acute e della diagnostica.

Quasi sempre l'esordio clinico acuto e clamoroso

Il paziente con leucemia acuta oggi ha concrete possibilità di poter guarire ma questo non vale per tutti né per tutte le forme e quindi bisogna che l'approccio diagnostico sia tempestivo, corretto ed efficace e per fare questo è necessario avere grande specializzazione.

(slide con grafico sui risultati terapeutici delle leucemie acute) Queste sono delle curve di sopravvivenza che hanno un significato storico ma anche sono attualizzate: le leucemie acute del bambino sono rare ma sono guarite in oltre l'80% dei pazienti quindi 4 su 5 pazienti con leucemia acuta vengono guariti.

Le leucemie acute dell'adulto linfoblastiche (LAL sta per leucemia acuta linfoblastica) non guariscono tutte, ne guariscono circa il 50% con le varie strategie terapeutiche.

Le leucemie mieloidi dell'adulto guariscono in circa un quarto dei pazienti con l'approccio terapeutico tradizionale, mettendo dentro *(nella definizione di "adulti" Ndr)* sia i pazienti più giovani sia i pazienti più anziani.

Per pazienti anziani (significa oltre i 65 anni ma soprattutto oltre i 70 anni quando queste forme mieloidi diventano più frequenti)ni risultati sono ancora molto poco accettabili e poco soddisfacenti.

Quando io ho iniziato a occuparmi delle leucemie acute, una diagnosi di leucemia acuta significava morte certa, quindi questi risultati mostrano i grandi progressi che sono stati fatti.

Qualche dato terminologico: le leucemie acute si dividono in due grossi capitoli, le forme mieloidi LAM o mieloblastiche e quelle linfoidi LAL o linfoblastiche.

Per darvi un'idea numerica (sono forme rare ma in un centro specializzato dove si raccolgono i casi di leucemie acute di tutta la provincia e anche oltre si accumulano dei numeri piuttosto elevati) le leucemie linfoblastiche sono meno, vuol dire che sono meno frequenti. E' così nell'adulto ma non è così in età pediatrica. Fino ai 20 anni sono prevalenti le forme linfoidi poi negli anni diventano meno frequenti e arrivano a un 20% e percentualmente crescono le forme mieloidi.

Quali sono gli aspetti fisiopatologici di riferimento?

(il prof fa una breve digressione sull'importanza di mantenere un quadro fisiopatologico di riferimento che rende più facile ricordare la moltitudine di patologie diverse, Ndr).

Nelle leucemie acute c'è sempre un'infiltrazione blastica midollare, che si esprime in una progressiva sostituzione dell'emopoiesi normale e successivamente una diffusione leucemica nel sangue e una colonizzazione leucemica tissutale.

L'infiltrazione blastica midollare porta a un'insufficiente funzione del midollo osseo. Il midollo osseo, che come mestiere fa il produttore di globuli rossi, globuli bianchi e piastrine che poi vengono messi in circolo, diventando insufficiente, genera anemia, piastrinopenia e granulocitopenia.

La sintomatologia clinica e il quadro clinico del paziente con leucemia acuta, si esprimono con sintomi che sono correlati all'anemia, alla piastrinopenia e alla granulocitopenia. Quindi ci sarà una sindrome anemica (pallore, fiatone, astenia, affaticamento) la sindrome emorragica (petecchie, emorragie spontanee) e le infezioni che sono sempre in agguato in questi pazienti (d'altra parte la componente monocito macrofagica/monocitica è carente). Le infezioni sono la prima causa di morte tutt'oggi nei pazienti affetti da leucemia acuta.

Come si arriva a una diagnosi di leucemia acuta?

Attraverso vari momenti:

-Il sospetto clinico, che induce a attivare un approccio diagnostico di base che ha come caposaldo l'esecuzione di un emocromo da cui ricaviamo tutte le informazioni che ci consentono di sostanziare il nostro sospetto e da cui partiamo poi con l'eventuale approfondimento diagnostico. Il sospetto clinico si basa su tutti questi elementi, che noi possiamo distinguere in sindrome anemica, sindrome emorragica e sindrome infettiva. Pallore ?? dispnea, petecchie, echimosi a mucose, metorragie, febbre, infezioni e poi dei segni legati sicuramente a queste situazioni ma anche disgiunti come l'astenia (che è un sintomo molto aspecifico), la sudorazione soprattutto notturna e il calo ponderale. Ricordate che sudorazione notturna, febbre e calo ponderale fanno parte di quel complesso di sintomi che vengono definiti sintomi sistemici e che sono una caratteristica abbastanza comune delle forme oncoematologiche aggressive. Vi può essere, dipende dalle forme, una epatoesplenomegalia (??) ma non si arriverà mai a vedere una milza così voluminosa come nella piastrinosi idiopatica. In alcune forme, soprattutto nelle forme linfoidi, ci può essere la presenza di linfonodi aumentati. In particolari forme di leucemia mieloide (sono le forme di derivazione monocitaria) c'è una ipertrofia gengivale, dolori ossei dovuti al rapido incedere della proliferazione che porta allo stiramento delle terminazioni sensitive del midollo, infiltrazione cutanea, sintomi e segni neurologici quando - non è un evento rarissimo ma neanche frequentissimo- vi sia un coinvolgimento del SNC, una meningite leucemica.

(slide con foto dei pazienti) Queste immagini vogliono mostrare i sintomi: pallore, tutte queste macchioline rosse sono le petecchie, che hanno la caratteristica di essere molto diffuse nel paziente con una grave piastrinopenia. Vedete una radiografia al torace che vorrebbe dimostrare la presenza di focolai bronco pneumonici. Ci possono essere fenomeni infettivi anche a livello tissutale con gravi flemoni a carico di vari distretti della faccia e, infine, l'ipertrofia gengivale. Questa immagine invece mostra una paresi da coinvolgimento di nervi della faccia dovuta a infiltrazione leucemica a livello del SNC che, come abbiamo detto, sono piuttosto frequenti nelle leucemie acute.

Il sospetto clinico nasce da questi elementi che portano ad effettuare accertamenti quali:

- Emocromo
- Striscio di sangue periferico
- Aspirato midollare
- Indagini istochimiche (sempre meno in realtà perché sono state superate dalle indagini immunofenotipiche ma c'è ancora qualche reazione enzimatica usata soprattutto per la definizione di linea della leucemia)
- Accertamenti routinari quali profilo biochimico completo che comprende il ?? la velocità di sedimentazione, gli enzimi epatici, la funzionalità renale etc.
- Ecografia addominale per valutare l'eventuale presenza di organomegalie che sfuggano a un esame obiettivo accurato
- Radiografia al torace

Cosa mostra l'**emocromo**?

- Anemia iporigenerativa : l'elemento chiave è l'assenza dei reticolociti nel sangue periferico. I reticolociti sono i globuli rossi giovani immessi nel circolo e un'anemia importante come quella della leucemia acuta non viene compensata, cioè non vengono immessi in circolo reticolociti proprio perché il midollo non è più in grado di produrre, ha perso la sua funzione.
- C'è per lo più una leucocitosi, ma non sempre. Talora la leucemia acuta si può presentare anche con una leucopenia
- Neutropenia

Lo **striscio periferico** mostra quasi sempre cellule immature, blasti con un blocco differenziativo maturativo. Nella leucemia mieloide cronica ci sono elementi immaturi, c'è qualche mieloblasto, pro mielocita, meta mielocita.??

In una leucemia acuta non trovate mai questa varietà di cellule immature, trovate le poche cellule mature che sono in grado di arrivare a maturazione come frutto della residua, di solito scarsa, componente produttiva del midollo e poi ci sono soltanto blasti. Non ci sono forme intermedie: questo si chiama blocco differenziativo maturativo.

L'**aspirato midollare**, che è obbligatorio in questi pazienti, ci consente di fare una diagnosi definitiva, che comunque da un occhio esperto soprattutto se c'è una blastosi importante può essere già posta con uno striscio di sangue periferico. L'aspirato mostra un'ampia sostituzione midollare, ad esempio un'occupazione blastica pari al 90,95% o 80%.

(Slide) Questo è lo striscio di sangue periferico di un paziente con una diagnosi della forma M3 di leucemia mieloide. La forma M3 è la forma che deriva da un livello maturativo di pro mielocita, tant'è vero che viene chiamata anche leucemia promielocitica. E' caratterizzata da questi elementi molto grandi, talora binucleari, che talvolta occupano quasi tutto il citoplasma. Sono presenti grandi quantità di granulazioni e si vede benissimo una grande quantità di corpi di Auer.

Sono elementi perossidasi positivi, mieloperossidasi positivi, cioè tutti questi elementi azzurrofilo contengono la perossidasi mieloide. Possono essere evidenziate: sono tutte queste zone bluastre che evidenziamo come la via promielocitaria sia ampiamente presente.

Qui c'è un grosso punto di domanda perché davanti a un quadro di questo tipo, anche un ematologo esperto non è in grado di dire di che forma si tratti però è in grado di dire che si tratta di una leucemia acuta perché questi elementi nel sangue non ci devono essere, sono tutti elementi grandi, immaturi, con una cromatina nucleare piuttosto sottile, che occupa quasi tutto il volume della cellula però non ci sono granulazioni citoplasmatiche che, quando presenti, ci indirizzano verso una forma mieloide.

Per definire il tipo di leucemia abbiamo bisogno di approfondimenti diagnostici. L'approfondimento diagnostico è importante per la definizione di leucemia acuta mieloide o linfoide. Poi l'approfondimento diagnostico serve per verificare certi sottotipi e soprattutto serve per dare una definizione prognostica. Sappiamo infatti che certe forme hanno una minore o maggiore possibilità di essere curate e guarite purché vengano applicati i trattamenti corretti e i trattamenti corretti sono spesso diametralmente opposti tra certe forme e certe altre. Per esempio, sbagliare una diagnosi di leucemia promielocitica significa precludere al paziente la possibilità di guarire, perché oggi le leucemie acute promielocitiche guariscono in circa l'80% dei casi.

Utilizzare un trattamento per una forma linfoblastica in un paziente affetto da una forma meroblastica o viceversa significa far perdere al paziente la possibilità di poter guarire. Per questo l'approfondimento diagnostico passa attraverso una serie di accertamenti immunofenotipici, citogenetici, molecolari.

Le **indagini immunofenotipiche** identificano gli antigeni caratteristici della linea mieloide e di quella linfoide, del livello maturativo e differenziativo delle cellule leucemiche. Cioè alcune cellule per il fatto di essere mieloidi o linfoidi o di essere a quel dato stadio maturativo esprimono o non esprimono certi marcatori che sono marcatori di linea (mieloide o linfoide e linfoide T o B) o di differenziazione (ricordate la slide che vi avevo mostrato sulla differenziazione linfoide e vi avevo spiegato che le linfoproliferative croniche erano tutte spostate a destra mentre a sinistra per quanto riguarda le forme linfoidi c'erano le leucemie acute).

Sono poco utili i dati di immunofenotipici per le forme acute mieloidi ben differenziate. Ad esempio, in una leucemia acuta promielocitica piena di granuli, la certezza che sia promielocitica ce l'abbiamo facendo delle altre indagini. Mentre invece è indispensabile l'approccio immunofenotipico per la definizione delle leucemie acute linfoidi e soprattutto le indagini immunofenotipiche sono utilissime per il successivo monitoraggio della malattia minima residua. E' importantissimo poter cogliere con indagini accurate e sofisticate la presenza di una cellula su 100000 perché la presenza anche di quella singola cellula è di cattivo auspicio in termini dell'evoluzione (*della malattia, Ndr*).

(Slide) Questa è una leucemia acuta mieloide e questa è una leucemia acuta linfoide di derivazione T. Non sapreste distinguerle vero? Neanche io. E' impossibile: bisogna in questo caso ricorrere a indagini immunofenotipiche.

(slide) E questa qui è una ML M0 e questa invece è una ML M7 e anche queste sono impossibili da distinguere su base morfologica.

(slide) Questa è una tabella (non andremo nei dettagli) che mostra come, a seconda che in una certa leucemia, per esempio nelle leucemie linfoblastiche T, siano presenti certi antigeni e assenti certi altri, ci consente di distinguere l'una dall'altra utilizzando un approccio immunofenotipico. Questo si basa sull'impiego di un citofluorimetro che è in grado di identificare le cellule positive da quelle negative per un determinato antigene, che viene evidenziato incubando le cellule con un determinato anticorpo legato a un fluorocromo. In base alle risposte che emergono (sui contenitori con il sangue e i blasti del paziente vengono poi messi i vari anticorpi) possiamo definire la forma (come in questo esempio, dove ci troviamo davanti a una forma che non ha C19 che non ha CD7 - ricordando che CD19 identifica tutte le forme T e CD7 tutte le forme B- ma ha il CD13 e l'hrdr ?? e la mieloperossidasi che sono elementi assolutamente caratteristici delle leucemie acute). In questo caso la forma è M0.

M0 vuol dire che è morfologicamente indifferenziata (non ha granuli, non ha bastoncini di Auer). Riusciamo a dire che appartiene alla linea mieloide grazie all'impiego di questi anticorpi.

M0,1,2,3,4,5,6,7

La **M0** è morfologicamente indifferenziata

M3 (ne abbiamo già parlato, c'è anche una variante che è la promielocitica)

M1 M2 sono a livello di differenziazioni intermedie fra l'M0 e l'M3 che è molto differenziata (avete visto prima quanti granuli aveva). L'M1 ha qualche granulino, l'M2 ne ha di più.

M4 e M5, con varianti, sono le leucemie acute di derivazione mielomonocitica e monocitica quelle che più frequentemente si esprimono con delle localizzazioni tissutali. Alcune di queste si possono esprimere addirittura con un accumulo di elementi leucemici al di fuori del midollo e del sangue, tanto da definire una situazione detta sarcoma granulocitico, (consiste in masse pseudo tumorali, in realtà tumorali nel senso di "tumore" ma non di origine solida bensì un conglomerato di elementi blastici). **M6** è l'eritroleucemia e la **M7** è la leucemia acuta megacarioblastica. M6 e 7 sono rarissime ma sono terribili.

Le altre sono più frequenti e le forme più frequenti in assoluto sono le forme monocitiche e le forme mieloidi (M1 e M2). M0 è piuttosto rara.

Sono tipici della leucemia acuta promielocitica questi fasci di corpi di Auer. Qui vedete qualche rimembranza con i precursori eritroidi, questa è un m6, questa è impossibile da definire, qui vedete sicuramente il nucleolo e le ?? E qui non ce ne sono per niente. (???)

Per la definizione delle forme linfoidi l'immunofenotipo è assolutamente indispensabile. Ad esempio questo caso noi lo definiamo come common (è una terminologia antica ma ancora usata, perché quando c'era molto poco dal punto di vista diagnostico sofisticato, si usava un antisiero contro il cosiddetto antigene CALLA che poi è stato definito come CD10 che era presente nella maggior parte delle forme di origine linfoblastica, per questo viene definito common).

(slide con grafici CD19, CD3, CD10) Le cellule sono B: questo è il limite al di là o al qua del quale c'è la positività o negatività per il CD19 o per il CD3. Nel primo grafico si vedono poche cellule CD3 positive (i linfociti normali) e i blasti (sono CD19 positivi cioè sono cellule B che coesprimono anche il TdT (terminal desossinucleotidiltransferasi) che è presente soltanto nelle cellule molto immature. Questo semplice profilo immunofenotipico consente di dire che ci troviamo davanti a una leucemia acuta di quel tipo mentre invece una forma di derivazione T mostra alla combinazione CD19 CD3 la negatività per tutte e due. In realtà la cellula T è CD3 positiva, ma non del CD3 di membrana (cioè M) bensì CY cioè citoplasmatico. Quindi bisogna permeabilizzare le cellule con certe procedure perché l'anticorpo anti CD3 penetri nella membrana plasmatica e metta in evidenza la presenza di CD3 da parte di queste cellule che sono anche TDT positive.

Davanti a cellule che morfologicamente sono tutte molto simili tra loro, è possibile dire che questa è una pre B ALL questa è una B precursor ALL e questa è una cortical B ALL.

Così come le abbiamo definite in questo modo, possiamo definirle ulteriormente nell'ambito della linea B come pre B, B precoci o mature B cell sulla base di questi antigeni evidenziati in citofluorimetria. Per quanto riguarda la linea T, possiamo differenziare le forme in early T (molto precoci), cortical o mature.

Questo è rilevante dal punto di vista clinico e dal punto di vista evolutivo. Nell'ambito delle leucemie linfoblastiche sono generalmente più frequenti le forme di derivazione B, così com'era per i linfomi e per le linfoproliferative: 80% di derivazione B e 20% derivazione T.

Le indagini molecolari evidenziano nella maggior parte dei casi alterazioni cromosomiche associate a arrangiamenti genici con produzione di proteine di fusione anomale (abbiamo già visto un esempio con la traslocazione 9;22 nella leucemia mieloide cronica) e identificano dei fenotipi molecolari strettamente associati ad evoluzione clinica favorevole o sfavorevole.

Noi sappiamo che, a seguito dei nostri accertamenti citogenetici e molecolari, quando noi troviamo una traslocazione 8;21 che vede coinvolti i geni ETO e AML1 e che, dal punto di vista immunofenotipico, ha una certa caratteristica, noi identifichiamo la forma che è prognosticamente sfavorevole e noi non penseremo per esempio a completare il trattamento di questo paziente con trapianto allogenico mentre invece dobbiamo sempre pensare a un trapianto allogenico in un paziente che abbia questo tipo di traslocazione che sappiamo essere prognosticamente molto favorevole.

Tra le forme favorevoli c'è anche la leucemia acuta promielocitica caratterizzata dalla traslocazione 15;17 che porta la produzione di un certo trascritto che si chiama PML/RAR alfa.

In indagini citogenetiche possono mostrare uno o più di questi elementi con relativa facilità e che consentono alla fine di mettere un'etichetta precisa, che ha il significato di "è una leucemia acuta, è una leucemia acuta mieloide piuttosto che linfoide, è una leucemia acuta mieloide a questo livello di differenziazione, è una leucemia acuta che porta delle alterazioni genetiche molecolari che danno una prognosi buona o cattiva".

Tutto questo è importante dal punto di vista delle scelte terapeutiche.

Il cromosoma Philadelphia, non è presente solo nella leucemia mieloide cronica dove è presente praticamente sempre, ma anche in circa il 30% delle leucemie linfoblastiche della linea B.

Questa forma che dal punto di vista del prodotto, della proteina di fusione è leggermente diversa da quella della leucemia mieloide cronica, va definita perché l'approccio terapeutico (soprattutto oggi in epoca di inibitori tirosin chinasi) cambia completamente. Quindi è assolutamente importante sapere che ci sia o non ci sia la traslocazione 9;22 con la presenza del trascritto BCR/ABL. In queste forme comunque l'uso degli inibitori non è efficace in tutti i pazienti a lungo termine come nella leucemia mieloide cronica però, insieme con un approccio integrato che comprende anche chemioterapia ed eventualmente trapianto di midollo, dà quella possibilità in più in una forma che una volta era mortale praticamente nel 100% dei pazienti.

Tutti gli elementi che abbiamo fino ad ora considerato vanno uniti ad altri elementi come l'età del paziente, le condizioni generali (ad es. presenza di comorbidità di vario tipo), se ci troviamo di fronte a una mieloide o una linfoide, qual è il citotipo, se è una forma de novo (come il paziente di 38 anni del caso clinico) oppure no (come succede nell'evoluzione delle mielodisplasie che

molto frequentemente si trasformano in leucemia acuta) cioè devo vedere se ho una forma appena insorta, primitiva oppure secondaria ad è importante perché cambiano completamente le prospettive prognostiche e anche l'approccio terapeutico. E' anche importante l'immunofenotipo T o B, le caratteristiche cliniche associate a prognosi sfavorevole (ad esempio se è presente una grave organomegalia, o se il numero di globuli bianchi è molto elevato) e certe alterazioni genetico molecolari . Per esempio in un paziente anziano possiamo ottenere molto poco e, se otteniamo una remissione completa, dura molto poco. Però, se sappiamo che quel paziente ha delle alterazioni genetico-molecolari favorevoli e non ha comorbidità importanti vale la pena di provarci, perché si può in alcuni casi ottenere un risultato definitivo.

Le leucemie acute: le scelte terapeutiche

Bisogna decidere in base all'età , se è una forma de novo o secondaria, se si intraprende una strada curativa cioè un trattamento intensivo finalizzato a ottenere la guarigione completa oppure, se il paziente è molto anziano e con comorbidità importanti, ci accontentiamo di un trattamento di supporto.

In ogni caso questi pazienti devono essere trattati in centri specializzati .

Quando noi abbiamo un paziente con una diagnosi di leucemia acuta, (ipotizziamo che il paziente abbia il 100% di blasti) vuol dire che ha 10 alla 12 cellule leucemiche presenti. Ovviamente in questa fase sono pochissime le cellule normali (*slide*, le vedete colorate in verde). Si fa la chemioterapia, si azzerava tutto ciò che c'è nel midollo (e sono rarissimi i casi resistenti a questo trattamento). Poi ,sfruttando un concetto noto già da tempo, e cioè che la cinetica di crescita delle cellule normali è più rapida della cinetica di crescita delle cellule leucemiche, una volta superata la fase di aplasia indotta da trattamento che dura due settimane,due settimane e mezzo, tre settimane o tre e mezzo (in ogni caso dura di più nell'età avanzata e meno nei giovani) si ripopola più rapidamente di cellule normali mentre è piccola la frazione che ricresce di cellule leucemiche. Quando noi arriviamo a un livello inferiore al 5% ,che è quello che noi riusciamo a evidenziare con una qualche certezza al microscopio, e definiamo quella situazione come una situazione di remissione completa, in realtà noi abbiamo ancora un ordine di grandezza compreso tra 10 alla 10 e dieci alla 11 cellule che dal punto di vista biologico è una cifra ancora enorme rispetto all'eliminazione complessiva. Ed ecco la ragione per la quale , questo avviene soprattutto nelle forme mieloidi, si ripetono i cicli di trattamento, in modo da ridurre progressivamente la componente blastica, e da normalizzare in più possibile la componente normale, nel tentativo (che non sempre va a buon fine) di eliminare l'ultima cellula leucemica o comunque di ridurre al massimo la componente blastica per portare il paziente al trapianto di midollo. Il trapianto di midollo ha tanto più successo quanto più "pulito" arriva il paziente al trattamento.

Lo schema terapeutico è molto diverso nelle mieloblastiche e nelle linfoblastiche.

Nelle mieloblastiche si mira all'induzione della remissione completa sempre in pazienti al di sotto dei 65 anni, si arriva talvolta fino ai settant'anni in pazienti in condizioni particolarmente favorevoli, e raramente si superano i 70 anni nell'eseguire un trattamento molto aggressivo che rischia poi di essere più dannoso della leucemia stessa. Il trattamento si basa su una polichemioterapia cioè su più farmaci associati tra loro e questi farmaci sono prevalentemente della categoria terapeutica delle antracicline.

La strategia però è completamente diversa nella M3, che vedremo.

Una volta fatto il primo ciclo e ottenuta una buona pulizia si cerca di consolidare con altri due o tre cicli, con cicli con associazioni chemioterapiche simili al primo ma in parte diverse.

In alcune persone si arriva a fare un trapianto mentre altre, generalmente quelle in età più avanzata si fa un trapianto con condizionamento cosiddetto "mini" cioè non così ablativo come un trapianto tradizionale.

E' assolutamente inutile fare una terapia continuativa di mantenimento in queste forme perchè non è efficace.

Quali sono i risultati dei trattamenti? Oggi noi perdiamo circa il 15% dei pazienti che muoiono durante la fase di induzione, nella quale il loro midollo non produce assolutamente niente. Li perdiamo per lo più per infezioni, per emorragia o per complicanze tossiche di vario tipo, soprattutto in persone anziane.

Poi esiste una quota tra il 15 e il 20 % di casi, soprattutto in persone anziane, che sono resistenti o con remissioni di brevissima durata.

Nel 60-70% dei casi otteniamo la remissione completa, ma circa la metà di questi o anche di più ricade dopo 6/8 mesi e la ricaduta lascia pochi margini di trattamento efficaci.

La prognosi di un gruppo di pazienti attorno ai 40 anni e la prognosi di un gruppo di pazienti attorno ai 70 è diversa: a 40 anni abbiamo il 40% mentre a 70 abbiamo il 5,1,2% di possibilità di guarigione.

Le infezioni sono in agguato, non c'è paziente che passi attraverso un'aplasia indotta dalla nostra terapia che è indispensabile per cercare di ottenere la remissione completa, senza che sviluppi una sepsi, una broncopolmonite. Sono più temibili le sepsi da GRAM negativi che tutt'ora sono aggravate da una certa mortalità che si è comunque ridotta nel tempo.

Il ruolo del trapianto allogenico

Guarisce circa il 50% dei pazienti che vengono trapiantati, però è una procedura ad alta morbilità e mortalità con costi spaventosi, serve una struttura particolare: gli ingressi sono molto controllati, bisogna cambiarsi accuratamente, l'aria entra passando per dei filtri per ridurre al minimo il rischio di infezioni.

Mantenere strutture di questo tipo ha dei costi estremamente elevati.

Il trapianto può essere effettuato in una minoranza dei casi perché i pazienti al di sopra dei 65 anni di solito non vengono trattati, salvo rare eccezioni, e oltre i 60 anni abbiamo più della metà dei pazienti. Il paziente deve avere meno di 60 anni e deve essere in condizioni tali da poter superare il trapianto che è una procedura piuttosto aggressiva.

Alla fine, complessivamente, su 100 pazienti con leucemia acuta, tra quelli che muoiono a motivo di altre complicazioni nelle fasi precoci del trattamento, tra quelli (10-15%) che non ottengono la remissione completa, quelli che ricadono precocemente, quelli

che hanno più di 65 anni, quelli che non hanno il donatore compatibile, quelli che una volta trapiantati (e sono circa la metà) non guariscono con il trapianto alla fine ne resta un 15 %. Quindi per quel 15% è importante ma per la stragrande maggioranza no. Abbiamo un'eccezione a tutto questo nelle forme mieloidi ed è la forma di leucemia acuta meroblastica M3. E' caratterizzata dalla morfologia particolare che ho già descritto prima, dalla presenza della traslocazione 15;17 . Questa traslocazione patognomica, diagnostica, responsabile della formazione di un gene ibrido PML/RAR alfa (che porta alla formazione di una proteina anomala recettore degli acidi nucleici) ha fatto sì che questa forma sia di regola trattata con una specie di vitamina, l'acido trans retinoico, insieme con dei chemioterapici e questa associazione porta alla guarigione di oltre il 70% dei pazienti. Più recentemente l'associazione dell'acido trans retinoico con un'altra sostanza non chemioterapica cioè l'arsenico, sembra essere altrettanto efficace. La forma M3 era quindi una forma di leucemia acuta (e lo è tutt'ora) caratterizzata da una sindrome emorragica imponente che abbiamo imparato a dominare, da una mortalità precoce molto elevata che portava a morte la maggior parte dei pazienti, ma oggi è diventata una forma di leucemia che noi desideriamo incontrare perché sappiamo che possiamo offrire chance di guarigione brillanti.

Per la leucemia acuta linfoblastica l'approccio terapeutico è diverso: si basa su farmaci diversi, in particolare sui cortisonici , sulla vincristina, su altri tipi di farmaci ed è estremamente importante nella strategia terapeutica avere in mente che frequentemente ci possono essere localizzazioni a livello del SNC.

Si trovano a livello del SNC, a livello meningeo, dei focolai di cellule leucemiche che non vengono raggiunte dal trattamento a motivo della barriera ematoencefalica. Sapendo questo noi dobbiamo fare delle cose particolari per esempio irradiare il cervello di questi pazienti, oppure, sempre più spesso, utilizzare dei farmaci che passano la barriera o andare addirittura a immettere il farmaco nello speco vertebrale.

Contrariamente alla forma mieloide, nella leucemia acuta linfoide si deve usare sempre il mantenimento che dura fino a tre anni . *(slide sul percorso terapeutico LAL dell'adulto)* il percorso di un paziente con leucemia acuta linfoblastica (e non è neanche dei più complicati) è segnato da tutte queste fasi di induzione, consolidamento, profilassi delle localizzazioni e passa attraverso tutta questa miriade di interventi terapeutici, che portano alla fine a questi risultati: in un bambino ho il 70% di guarigione, nell'adulto tra il 30 e il 50% (dipende dalle forme ma ce ne sono alcune tipo la forma di burkitt che una volta portava a morte tutti quelli che ne erano affetti nel giro di 20 giorni, adesso riusciamo a ottenere fino all'80% di guarigione) . Questa diapositiva non tiene ancora conto di quanto stiamo migliorando utilizzando anche gli inibitori tirosin chinasi.

Possiamo migliorare ancora, con nuove strategie, con ulteriore miglioramento della terapia di supporto, più efficacia del trapianto, nuovi agenti differenzianti (ad esempio l'arsenico), strategie biologiche innovative e tra queste una nuovissima molecola che si chiama rituximab (il "mumab" è il postfisso di tutti gli anticorpi monoclonali) che è estremamente efficace . Ha una doppia specificità, una verso il CD20 e si aggancia ai linfociti T con l'altra specificità si attacca al CD19 e vede i linfociti B e questa è una specie di calamita che porta le cellule T, che sono le cellule effettrici della funzione citotossica nei confronti di blasti, sui blasti ??.

Lezione di Ematologia del 24/10/2013 (1)

sbobinatore. Romanò Giorgia

revisionatore: Dalla Grana Elisa

LEZIONE DI EMATOLOGIA DEL 24/10/2013

Il sangue è un tessuto molto particolare perché è un tessuto in gran parte sospeso in un liquido, chiamato plasma, che contiene gli elementi figurati del sangue, che sono l'oggetto dell'attenzione dell'ematologia. L'ematologia, infatti, studia la fisiologia, la fisiopatologia e la patologia degli elementi figurati del sangue, allo scopo di curare, trattare e possibilmente guarire le malattie che colpiscono questi elementi. Gli elementi figurati sono innanzitutto i globuli rossi, che sono il vero elemento del sangue perché vengono prodotti e restano per il loro intero arco vitale confinati al sangue; poi ci sono i globuli bianchi: neutrofili, linfociti, monociti, basofili, eosinofili, cellule natural killer,... che in realtà sono elementi prodotti nel midollo osseo che circolano nel sangue solo come via di transito verso i tessuti, nell'ambito dei quali svolgono le loro funzioni. A questi elementi che abbiamo nominato si aggiungono le piastrine, che non sono veri e propri elementi figurati ma sono frammenti citoplasmatici di grosse cellule presenti nel midollo osseo, i megacariociti e che rilasciano frammenti del loro citoplasma nel circolo sotto forma di piastrine, che sono membrane cellulari che contengono citoplasma con varie sostanze enzimatiche che vengono attivate nel momento in cui la piastrina deve svolgere la sua attività, generalmente qualora ci sia una rottura di continuo della superficie endoteliale; attraverso lo studio delle piastrine l'ematologia si occupa anche della coagulazione, sia del braccio procoagulativo che del braccio anticoagulativo.

Tutti gli elementi figurati del sangue vengono prodotti nel midollo osseo, l'organo centrale ematologico, che si trova all'interno delle strutture ossee più rilevanti dell'organismo: nel cranio, nelle vertebre, nello sterno, nel bacino, nelle coste e nei femori; esso provvede al mantenimento delle cellule staminali ematopoietiche e alla normale differenziazione da queste ultime delle varie linee ematopoietiche che daranno luogo alle cellule differenziate.

I globuli rossi non sono propriamente delle vere cellule, perché a livello midollare, prima di completare la loro maturazione, vanno incontro a un processo, chiamato autofagia, nel corso del quale vengono autodigeriti i mitocondri, il reticolo endoplasmico, i ribosomi e il nucleo: rimane quindi una struttura "semicellulare" costituita da un apparato enzimatico per la produzione di energia e pochi altri enzimi deputati a proteggere il globulo rosso dalla perossidazione. Contenuto principale del globulo rosso è l'emoglobina, che occupa il 30-35% dello spazio e che i globuli rossi trasferiscono dai polmoni ai tessuti periferici e dai tessuti ai polmoni: nei polmoni l'emoglobina si ossigena, cede l'ossigeno ai tessuti periferici, prende l'anidride carbonica, la trasporta ai polmoni.

Ma non era più semplice far circolare l'emoglobina direttamente nel plasma, come fanno tante altre proteine? Come mai c'è questo complicatissimo sistema che richiede addirittura un tessuto dotato di cellule staminali, che formano elementi cellulari che poi vengono parzialmente demoliti, immessi in circolo?

N.d.R. Una studentessa suggerisce che se non fosse così, non sarebbe permesso il rilascio dell'ossigeno a causa dell'elevata affinità dell'emoglobina per quest'ultimo.

Il professore dice che questa è una spiegazione riduttivistica, corretta, ma che non tiene conto del significato evolutivo di questo processo. Esistono degli organismi molto più semplici di quello umano in cui le proteine deputate al trasporto dei gas non sono protette in questo modo ma circolano libere. L'evoluzione ha incontrato il primo limite... studente: "se l'emoglobina circolasse liberamente verrebbe filtrata a livello renale". Il professore dice che è giusto, ma non è questo il motivo evolutivo. La risposta è che un meccanismo di questo tipo consente di utilizzare una grande quantità di molecole trasportatrici di ossigeno, quantità che non potrebbe circolare liberamente nel plasma perché causerebbe un'eccessiva pressione oncotica. Il secondo motivo è che la presenza di emoglobina all'interno di queste strutture consente un'organizzazione di livello superiore dal punto di vista strutturale, cioè la formazione di tetrameri i quali, aggiungendo questa conformazione strutturale, aggiungono un'ulteriore livello di regolazione. Nel 1958 Max Perutz ricevette il Nobel per la Fisiologia e la Medicina per aver risolto la struttura molecolare dell'emoglobina e si è potuto capire che la struttura quaternaria costituisce un'affinamento della regolazione della funzione di assorbimento e cessione dell'ossigeno. Perutz diceva che nell'emoglobina "l'appetito vien mangiando": cioè la struttura quaternaria consente la costituzione della celeberrima curva a S dell'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno, la quale costituisce la seconda grande acquisizione evolutiva dopo l'incremento della quantità delle proteine trasportate (120 mg/L sono tanti!); questa seconda acquisizione consiste nel fatto che se una molecola di ossigeno lega il ferro di un eme, tutti gli eme sono legati con l'ossigeno, e se una molecola d'ossigeno esce, tutti gli altri eme cedono l'ossigeno...per questo diceva "l'appetito vien mangiando": quando entra il primo ossigeno, quella struttura si modifica e l'affinità aumenta, è più facile che altro ossigeno entri e legghi il ferro; questo comporta che la cessione dell'ossigeno possa avvenire ad un livello tissutale di pressione dell'ossigeno straordinariamente elevato, rispetto agli organismi meno evoluti. Per riassumere, tutto questo significa che quantità molto grandi di ossigeno si rendono disponibili in tessuti in cui la tensione d'ossigeno è già basalmente molto più alta. Questa è stata una spinta evolutiva straordinaria verso lo sviluppo di tessuti estremamente complessi, ad elevata richiesta energetica, che senza una soluzione di questo tipo difficilmente avrebbero potuto svilupparsi; l'essere umano deve la propria esistenza a questo trucco evolutivo che ha impacchettato le molecole di trasporto dei gas in questa struttura sofisticata.

I globuli rossi costituiscono circa il 45% di un volume di sangue: questo 45% viene chiamato EMATOCRITO, e viene solitamente espresso in percentuale. Il 55 % è plasma, cioè la parte liquida del sangue con tutti i fattori della cascata coagulativa; se la cascata coagulativa fosse stata attivata e quindi i fattori consumati, tolti di mezzo, parleremmo non di plasma ma di siero. I globuli bianchi e le piastrine costituiscono il buffy coat, cioè quella sottilissima striscia grigia che si deposita al di sopra dei globuli rossi se centrifughiamo gentilmente e lasciamo precipitare il sangue in una provetta. Come si studia il sangue? Il più antico, dal punto di vista dell'ematologia, è lo striscio di sangue periferico: consiste nel prendere una goccia di sangue, dal dito o dal lobo dell'orecchio, si deposita la goccia su un vetrino appositamente preparato e la si striscia facendo uso di un altro vetrino. Quello che vedete qui sono 5 esempi di striscio: il primo sulla sinistra è l'unico eseguito in modo tecnicamente adeguato.

Lo striscio di sangue periferico consente di vedere i globuli rossi: la loro forma, la loro grandezza e l'intensità della loro colorazione. Dopo che si è eseguito lo striscio il sangue viene fatto essiccare all'aria, quindi non fissato, e poi viene colorato con il May-Grunwald/Giemsa: in realtà sono due coloranti e si utilizzano in sequenza. In una ventina di minuti il vetrino è pronto e si può guardare al microscopio. Si vedono i globuli rossi, le piastrine, e si può notare la differenza di grandezza tra i due elementi: il globulo rosso è circa 7.5 micron di diametro, circa 85 femtolitri di volume. Il globulo rosso ha una conformazione che si può apprezzare al microscopio elettronico: ha la forma di uno pneumatico ma con la parte centrale non bucata. La parte centrale è più chiara, e questo perché l'emoglobina è contenuta nella parte più esterna. La prima informazione sui globuli rossi che vi dà lo striscio è sulla forma, poi anche sulla dimensione e sulla colorazione dei globuli rossi, cioè la quantità di emoglobina: tutto questo fa parte di una valutazione qualitativa, a quella quantitativa arriveremo in un secondo momento.

Nello striscio di sangue periferico circola anche una piccola proporzione, circa l'1-2%, di reticolociti, che sono globuli rossi molto giovani, appena usciti dal midollo che contengono ancora una discreta quantità di mRNA per la sintesi di emoglobina, che non hanno fatto in tempo ad utilizzare tutto il corso della differenziazione intramidollare. Si chiamano così perché questi residui di mRNA si colorano in blu, sono acidi, quindi assumono il colorante basico, e acquisiscono questo aspetto reticolare. I reticolociti sono una componente minoritaria ma molto importante, perché rappresentano, dal punto di vista pratico, la quantificazione dell'efficienza midollare, in termini di produzione di globuli rossi.

Immaginiamo che ci sia una perdita di sangue in un organismo assolutamente sano: perde una certa quantità di sangue, quindi il valore dell'emoglobina diminuisce; la riduzione del valore dell'emoglobina comporta una riduzione dell'ossigenazione tissutale che viene percepita da particolari sensori presenti nel nostro organismo e in particolare a livello renale, che mandano un messaggio di induzione dei geni per l'eritropoietina, la quale viene prodotta, viene immessa in circolo, circolando raggiunge il midollo dove induce una differenziazione in senso eritroide delle cellule staminali ematopoietiche: aumenta quindi la quota di differenziazione midollare in senso eritroide, e questo comporta la produzione di una maggior quantità di globuli rossi che continuerà fino a quando il recupero della tensione di ossigeno non determinerà una riduzione della quantità di eritropoietina resa disponibile. Che cosa segnala l'efficienza di questo controllo omeostatico? La quantità di reticolociti immessi in circolo dal midollo, cioè il loro incremento, che possono quindi essere utilizzati come indice chiaro, diretto, semplice ma molto attendibile di efficienza eritropoietica midollare. Infatti la classificazione fisiopatologica delle anemie si basa sulla valutazione della capacità midollare di produrre reticolociti: le anemie che si associano ad un'aumentata produzione di reticolociti sono anemie che evidentemente non hanno un'origine midollare, ma sono anemie la cui causa è una distruzione periferica dei globuli rossi alla quale il midollo reagisce in maniera perfettamente efficiente, tentando di compensare il difetto; se il difetto è stata un'emorragia, e la causa è stata superata, il compenso avrà successo, ma se la causa di distruzione periferica è presente a livello splenico, il midollo potrebbe non aver successo nel tentativo di compensare: si assisterà dunque a un assestamento su livelli emoglobinici più bassi del normale.

D'altra parte, se l'anemia è dovuta a un'inefficace eritropoiesi midollare, vi aspettate che sia segnalata da una diminuzione dei reticolociti. Quindi da una parte avrete il paziente anemico con reticolociti elevati, dall'altra parte un paziente altrettanto anemico ma senza reticolociti: questo vi consente di dire che in questo secondo caso sono di fronte a un'anemia iporigenerativa, mentre nel primo caso si tratta di un'anemia da distruzione periferica e i meccanismi eritropoietici midollari sono conservati.

Nella nostra specie sono presenti diversi tipi di emoglobina: alcuni presenti sono a livello midollare, altri a livello fetale e altri nella vita adulta. Durante vita fetale l'emoglobina è costituita da due catene alfa e due catene gamma, mentre nella vita adulta due catene alfa e due beta. Una piccola quota di emoglobina fetale può persistere, ma se è più di una piccola quota si tratta di una sindrome talassemica.

Le catene gamma sono delle catene la cui struttura primaria e terziaria ma non quaternaria differisce da quella delle catene beta, cosicché le catene gamma presentano una maggiore affinità per l'ossigeno, che permettono al feto di estrarre l'ossigeno dal sangue materno a livello placentare, e le catene beta della mamma sono in grado di cedere ossigeno all'emoglobina del bambino. Lo switch si completa entro 6 mesi dalla nascita, e si osserva la completa caduta dell'emoglobina fetale $\alpha_2\gamma_2$ e un incremento di quella adulta, $\alpha_2\beta_2$. Questo significa che tutte le condizioni congenite a carico delle catene beta insorgono dopo la nascita entro i primi sei mesi, mentre tutte le condizioni anomale a carico delle catene alfa sono già presenti nel corso della vita intrauterina. Torniamo al nostro striscio di sangue periferico: i globuli rossi normali vengono chiamati normociti, e vuol dire che la loro dimensione e la loro forma sono nella norma. Ma si può avere uno striscio di sangue periferico con alterazioni considerevoli nelle dimensioni e nella forma dei globuli rossi; possono essere più grandi o più piccoli, di forme varie e alcuni addirittura frammentati: questo quadro prende il nome di anisopoichilocitosi.

Allo striscio di sangue periferico è possibile riconoscere una macrocitosi, con l'eritrocita più grande della norma, e si possono riscontrare forme strane (a goccia) e anomalie di colorazione: ad esempio la zona centrale, invece di essere più chiara, può essere più scura, e queste si chiamano "cellule a bersaglio", che contengono pochissima emoglobina e che hanno le membrane della parte centrale fortemente accostate, e questo dà la colorazione più scura. Si possono riscontrare anche degli eritroblasti, cioè degli eritrociti immaturi che sono usciti fuori dal midollo per errore. Cose ancora più strane sono questi globuli rossi: sono tutti della stessa dimensione, della stessa forma, ma all'interno contengono queste specie di cuffie, che sono i parassiti della malaria, quindi questo è uno striscio di sangue diagnostico. Il parassita della malaria si moltiplica nei globuli rossi e ne causa la lisi, e in corrispondenza della lisi si ha l'episodio febbrile che è tipico della malaria, ogni 3 o 4 giorni si ha la punta febbrile, dovuta appunto alla lisi degli eritrociti. La malaria è quindi una causa di anemia in cui si ha un aumento dei reticolociti.

GLOBULI BIANCHI

I globuli bianchi si dividono in due grandi gruppi: quelli granulati e quelli non granulati. Quelli granulati vengono chiamati anche polimorfonucleati, perché oltre ad avere la caratteristica di contenere dei granuli hanno un nucleo plurilobato; due lobi come ad esempio negli eosinofili, ma anche 3,4,5, fino a 10 come ad esempio nei neutrofili: più il neurofilo è vecchio, maggiore è il numero delle lobature nucleari. Abbiamo poi le cellule mononucleate, che sono linfociti e monociti, in cui il nucleo non è lobato, o lo è poco, come nei monociti, e soprattutto sono cellule che non contengono granuli. Questo è un aspetto importante dal punto di vista diagnostico, infatti le patologie neoplastiche del midollo, le leucemie, si dividono in leucemie granulate e degranulate, le quali sono rispettivamente leucemie che insorgono nella linea differenziativa delle cellule granulari e in quella delle cellule mononucleate: c'è quindi la conservazione di un qualche aspetto della differenziazione originale, tramite la presenza ad esempio dei granuli, che sono sostanzialmente sostanze enzimatiche che queste cellule utilizzano una volta entrate nei tessuti nell'ambito dei processi infiammatori a cui partecipano, liberandole e causando anche processi infiammatori.

Nel sangue periferico sono presenti linfociti di diverse dimensioni: piccoli, medi e grandi. I monociti sono gli elementi più grandi, confrontandoli con i globuli rossi si può stimarne il diametro. Gli eosinofili sono così chiamati perché presentano questi granuli che si colorano in rosa, molto caratteristici. Il basofilo presenta grossolane granulazioni blu, che tendono a coprire le altre strutture della cellula e possono anche fuoriuscire dai contorni di questa.

Quello che vedete più in basso è sempre uno striscio di sangue ma popolato di "strani elementi", con un grande nucleo che si colora di azzurro: potrebbero sembrare dei linfociti, invece sono elementi che nel sangue periferico non dovrebbero mai esserci, sono dei blasti, cioè cellule leucemiche altamente indifferenziate che popolano il sangue periferico, oltre che il midollo; quindi una cosa semplice come uno striscio di sangue periferico in questo caso permette di fare diagnosi certa di leucemia acuta; è una leucemia linfoblastica, cioè a carico della differenziazione linfoide. Però tutto questo è qualitativo, e queste tecniche di colorazione e quest'analisi sono state sviluppate tra la fine del 1800 e i primi anni del '900 e oggi si usa sostanzialmente la stessa strumentazione. Tutti questi aspetti qualitativi di cui abbiamo parlato, il colore, la grandezza, oggi vengono trasformati in parametri quantitativi che vengono raccolti sempre da una goccia di sangue ma che passa attraverso uno strumento di conta automatica: questi parametri vengono compattati e resi sotto forma dell'ESAME EMOCROMOCITOMETRICO, che è l'esame che misura gli elementi figurati del sangue, ne misura la concentrazione e, per quanto riguarda gli eritrociti, anche le dimensioni e la quantità di emoglobina contenuta. Per quanto riguarda i globuli bianchi misura le concentrazioni delle singole sottopopolazioni. Misura la quantità di emoglobina per unità di volume e per singolo eritrocita e misura, determinando la concentrazione dei globuli rossi, l'EMATOCRITO, cioè la quota unitaria di volume ematico occupata dai globuli rossi rispetto al plasma e ai globuli bianchi. L'emoglobina è normalmente pari a circa 14-15 g/dl, al di sotto dei 12g/dl si ha la condizione patologica chiamata anemia. Vi faccio notare che la condizione di anemia si definisce solo in termini di riduzione della concentrazione di emoglobina, non come riduzione del numero di globuli rossi: questo non significa che non è mai vero che i globuli rossi siano ridotti nelle anemie, però ci sono delle anemie dove si vedono i globuli rossi aumentati, per cui il numero di globuli rossi non può essere utilizzato per definire l'anemia.

L'ematocrito normalmente è intorno al 40-45%.

I globuli rossi sono 4.000.000-4.500.000/mm³.

La concentrazione dei globuli bianchi è intorno a 6.000-7.000/mm³. Di cui:

- neutrofili: 3000/mm³
- linfociti: 1500/mm³
- monociti: 500-600/mm³

- eosinofili e basofili: 5-10/mm³ (valori approssimativi, N.d.R.)

Per quanto riguarda gli eritrociti, abbiamo alcuni parametri specifici:

- Volume corpuscolare medio (MCV): il volume medio di ogni eritrocita, che è ovviamente dato da ematocrito/n. di globuli rossi. Normalmente è 85 fentolitri.
- Contenuto cellulare medio di emoglobina (MCH): data da concentrazione emoglobinica/n. di globuli rossi. 27-28 picogrammi. In ogni singolo globulo rosso sono presenti 28 picogrammi di emoglobina.
- Concentrazione media di emoglobina (MCHC): 30%

Questi parametri quantitativi generano una seconda classificazione delle anemie (la prima, quella fisiopatologica, si fonda sul riconoscimento sulla capacità o meno del midollo di rispondere alla situazione di anemia). Questa classificazione, che si sovrappone in parte a quella precedente, è basata sulle dimensioni dei globuli rossi, che all'esame emocromocitometrico si presentano in 3 categorie:

1. ANEMIE normocromiche NORMOCITICHE: con MCV e MCH conservati.
2. ANEMIE MACROCITICHE: caratterizzate da un incremento notevole del MCV, che può arrivare anche a 130-140 fentolitri.
3. ANEMIE ipocromiche MICROCITICHE: con MCV di 60-70 fentolitri (nelle sindromi talassemiche anche 50 fentolitri). In questa situazione di norma è ridotto anche il contenuto emoglobinico medio, quindi l'MCH scenderà fino a 20, 12 picogrammi! Per questo parliamo di anemie ipocromiche microcitiche.

Un esempio di anemia normocromica normocitica è quella che si evidenzia in seguito ad emorragia. Ovviamente se si presenta emorragia in un talassemico la sua non sarà un'anemia normocromica normocitica, perché c'è una condizione congenita di microcitosi.

Un esempio di anemia ipocromica microciticca è l'anemia sideropenica. Tutte le condizioni che comportano un'alterata sintesi emoglobinica, acquisite (come l'anemia sideropenica) o congenite (come la talassemia) che siano, portano a un incremento del numero di mitosi durante l'eritropoiesi: questo perché il meccanismo omeostatico che segnala all'eritrocita lo stop del processo mitotico è strettamente connesso alla concentrazione di emoglobina che si trova all'interno del globulo rosso. Quindi situazioni in cui la concentrazione di emoglobina media è bassa si caratterizzano per un errore verso un maggiore numero di mitosi: e poiché la quantità "iniziale" di citoplasma è invariante, il maggior numero di mitosi produrrà eritrociti più piccoli. Minore è la quantità di emoglobina, maggiore sarà il numero di mitosi, più piccoli saranno i globuli rossi. Per questo le talassemie, che si presentano con disturbi emoglobinici piuttosto rilevanti (e non modificabili, perché determinati geneticamente), si caratterizzano per la forma più ipocromica e più microciticca di tutte le anemie di questa classe.

Un esempio di anemia macrociticca è quella da carenza di folati e B12: questi sono coinvolti nella sintesi delle basi puriniche; la loro carenza comporta quindi che il normale numero di mitosi durante l'eritropoiesi sia ridotto. Diciamo, ad esempio, che invece di 5 divisioni ne avremo 3 ... però la quantità di emoglobina è invariata! Quindi il numero di cellule prodotte da 3 mitosi anziché da 5 si suddivide l'emoglobina che, in condizioni normali, sarebbe stata trasportata dalle cellule (*più numerose, N.d.R.*) derivanti dalle 5 mitosi. Il risultato è che questi globuli rossi sono molto più grandi.

Domanda di una studentessa: Ma se le mitosi vanno avanti fino a quando la concentrazione di emoglobina non è abbastanza, perché queste anemie sono ipocromiche? Per quanto queste cellule siano molto piccole, non raggiungono una concentrazione di emoglobina ottimale, in proporzione alle loro dimensioni? Cioè, non ha detto che si fermano quando raggiungono la concentrazione ottimale?

Il professore risponde che non si può superare un certo numero di mitosi a causa dei sistemi di controllo studiati in biologia molecolare, come ad esempio i telomeri. Quindi quello che succede è che quella cellula va incontro ad ALCUNI cicli mitotici aggiuntivi, che determinano la riduzione di materiale citoplasmatico: ma essendo gravemente carenti di emoglobina o vanno incontro ad apoptosi o riescono a maturare e ad uscire dal midollo: quelle che vanno incontro a troppe mitosi vanno incontro ad apoptosi (*credo voglia dire che se anche riuscisse ad esserci un numero di mitosi esatto, cioè che determinerebbe la giusta quantità di emoglobina all'interno di quelle cellule molto piccole, comunque queste non sopravviverebbero, perché, come sottolinea in seguito, si tratta di una eritropoiesi inefficace, N.d.R.*)

Le poche cellule che riescono a sfuggire all'apoptosi si ritrovano nel sangue periferico: hanno subito un po' di mitosi in più, tutto sommato hanno una quantità di emoglobina sufficiente per passare il check-point e quindi vengono messe in circolo, ma sono cellule più piccole della norma e ipocromiche.

Altra domanda: ma quindi l'MCHC è ridotto o conservato, in queste anemie? L'MCHC è un pochino ridotto, ma ricordo che è un parametro calcolato e quindi non molto rilevante, in questo caso.

Altra domanda: dal momento che il deficit di vitamina B12 e di folati va ad inficiare la sintesi di basi puriniche, ci sono anche altri tessuti che risentono di questo deficit? Certamente! Tutti i tessuti a elevato turnover (soprattutto mucose dell'apparato gastrointestinale). La B12 è il coenzima che trasferisce un metile sull'omocisteina per formare la metionina. Se manca la B12 la metionina, che è molto importante a livello del SNC per la sintesi della mielina, non si forma. Il quadro di grave deficit di B12, che oggi è piuttosto difficile da riscontrare, comporta quindi una grave anemia macrociticca, di solito il paziente ha 4-5 grammi di Hb abbastanza ben sopportati, disturbi gastrointestinali e mucosi, alterazioni neurologiche (difetti della conduzione e deficit sensitivo-motorio periferico) dovute a deficit di produzione di mielina.

Lezione di Ematologia del 31/10/2013 (1)

Lezione vuota.

EMATOLOGIA 31.10.2013

Sbobinatore: Claudia Pasquali
Revisore: Andrea Caravati

EMATOPOIESI PERIFERICA, CLASSIFICAZIONE ANEMIE E ANEMIE IPORIGENERATIVE (INIZIO)

Le **anemie iporigenerative** sono quelle anemie caratterizzate da un'adeguata eritropoiesi e quindi da un ridotto numero di reticolociti, caratterizzati da abbondante mRNA che alla colorazione assume l'aspetto di un reticolo blu (da cui il nome delle cellule). I reticolociti sono un indice attendibile della funzionalità midollare ma, ancor più del numero assoluto di questi precursori degli eritrociti, si tende ad utilizzare l'**indice reticolocitario**, calcolato utilizzando una semplice formula che permette di *normalizzare* i valori ottenuti dal sangue del paziente :

$\text{Reticolociti (\%)} = (\text{numero reticolociti} / \text{numero eritrociti}) * 100$

$\text{Indice reticolocitario} = \text{conta reticolociti (\%)} * (\text{ematocrito misurato} / \text{ematocrito normale})$

Il **midollo ematopoietico periferico** si trova a livello di :

- cranio e mandibola (dove rappresenta il 13% del peso dell'osso)
- omero, scapola, clavicola (8%)
- sterno e coste (10%)
- vertebre (28%)
- ossa del bacino (34%)
- femore (4%)

I sistemi regolatori della differenziazione delle cellule del sangue, da staminali a mature, sono molto affascinanti e han dato vari spunti interessanti alla moderna biologia molecolare ; purtroppo nel nostro corso non c'è il tempo di approfondire questo argomento e ce ne occuperemo perciò solo dal punto di vista pratico. Come si studia il midollo ?

Il midollo si studia prendendone una piccola quantità e analizzandola. Due sono le modalità possibili:

- mielocentesi (Studio citologico. Letto direttamente dall'ematologo)
- biopsia osteomidollare (Studio istologico)

MILOCENTESI

La mielocentesi consiste nel prelevare una piccola quantità di midollo osseo, con un ago apposito, dalla **spina iliaca posteriore** (protuberanza superiore posteriore dell'osso del bacino sulla quale si inseriscono i grossi muscoli degli arti inferiori, zona molto semplice e sicura da raggiungere). Con l'ago si oltrepassa la corticale ossea e si raggiunge la cavità entro cui è contenuto il midollo ematopoietico.

L'ago utilizzato è **cavo**, e la sua cavità viene **chiusa da un particolare specillo** inserito dall'estremità superiore fino a raggiungere la punta dell'ago ; questo dispositivo permette di eseguire la manovra con un ago chiuso che però può essere reso cavo in qualsiasi momento, ed in particolare, si estrae lo specillo centrale una volta raggiunta la cavità midollare, che mediante l'ago cavo può così essere messa in comunicazione con l'esterno. Tolto lo specillo, si inserisce al suo posto una normale **siringa per prelievi e si aspira** una piccola quantità di midollo osseo, che esce dalla siringa mescolato a sangue midollare.

L'aspirato viene messo sul **vetrino e strisciato**, come fosse normale sangue periferico. Senza usare fissativi particolari, si fa essiccare all'aria lo striscio, e lo si colora con May-Gruenwald/Giemsà, proprio come il sangue periferico. Questo permette di **apprezzare la componente cellulare del midollo**. La mielocentesi, per la modalità di ottenimento del campione, è un **esame citologico**: permette di valutare la qualità delle cellule presenti nel midollo, ma non restituisce la reale struttura anatomica e istologica del midollo osseo.

Il midollo osseo può dare luogo ad una buona quantità di materiale, valutabile oppure a un « *dry tap* » (detto anche, con un termine ormai in disuso, *puntio sicca*), quando non sono in grado di aspirare nulla, nonostante i ripetuti tentativi. A questo punto, o rinuncio a valutare il midollo o ricorro ad una tecnica alternativa, la biopsia osteomidollare.

BIOPSIA OSTEO MIDOLLARE

Questo esame, di tipo istologico, prevede di prelevare, sempre dalla **spina iliaca posteriore superiore**, un piccolo **frustolo di osso comprendente la corticale e la midollare** (lungo dai 2 ai 3 cm, per uno spessore dai 4 ai 5mm), che viene **fissato in formalina e processato** come qualunque altro preparato istologico.

Questo prelievo ci consente di valutare la **cellularità presente nel midollo, la struttura istologica, la disposizione degli elementi cellulari, le componenti accessorie** midollari (in particolare la componenti ambientali).

Punctio sicca può essere determinata da due condizioni :

- midollo aplastico, vuoto
- midollo talmente stipato di cellule da essere diventato un tessuto solido, impossibile da smuovere tramite aspirazione

queste due condizioni diametralmente opposte, possono manifestarsi in periferia con un emocromo assolutamente uguale, ossia un **emocromo pancitopenico** : anemia, leucopenia, piastrinopenia.

Con la biopsia osteomidollare questi sono problemi che ci si lasciano alle spalle.

Possiam considerare l'ago della biopsia come il simmetrico dell'ago della miolocentesi.

L'**ago è cavo** e per prelevare il frustolo si inserisce l'ago cavo, in modo che al suo interno si inserisca una quantità progressivamente maggiore di tessuto osseo. Uno specillo aiuta a valutare la quantità di tessuto presente nell'ago, quando si ritiene che la quantità di tessuto sia adeguata, sufficiente, si procede all'estrazione : si produce una piccola frattura relativa al frustolo raccolto, e compiendo una **lussazione**, lo si estrae e lo si mette in formalina e lo si manda all'esame istologico.

(è importante prestar attenzione a non diluire i frustoli midollari in troppo sangue...)

Questi prelievi si eseguono in 5-7 minuti in ambulatorio, con una piccola anestesia locale, non richiedono punti di sutura e guariscono spontaneamente in qualche giorno. Sono manovre molto semplici, molto sicure e molto informative sulla patologia ematologica.

Immagine di una biopsia osteomidollare (frustolo) l'ingrandimento è di 40x, ed è quello tipico dell'ematologia:

- corticale
- midollare : vi si riconoscono puntini rossi, sono le cellule ematopoietiche in via di differenziazione, un processo estremamente ordinato , che avviene in zone precise, secondo precisi stimoli chemochinici. Molto ordinato e preciso è il dislocamento delle cellule in via di maturazione dal midollo al sangue.

Immagine di un midollo aplastico : piccole isole residue di ematopoiesi, ma la gran parte del midollo è vuota.

In un midollo del genere, una miolocentesi non darebbe luogo a nessun tipo di materiale.

Immagine di midollo stipato da elementi cellulari : tipico delle leucemie, dove si ha una totale perdita del controllo dell'omeostasi cellulare.

Striscio di sangue midollare : nel corso dello striscio, si provoca il rotolamento di piccoli frustoli di midollo osseo sul vetrino ricavati tramite aspirazione. I frustoli, durante il rotolamento, si lasciano dietro elementi cellulari in corso di differenziazione. I frustoli sono riconoscibili a livello dei « baffi » ossia le parti più distali dello striscio, come elementi scuri, neri.

La diagnosi ematologica viene eseguita con un ingrandimento 100x.

Immagine di un nido eritropoietico : una grande cellula macrofagica raccoglie, avvolge, all'interno del suo citoplasma gli eritroblasti in corso di maturazione.

Fasi della maturazione eritroide :

- normoblasto
- eritroblasto basofilo
- eritroblasto policromatofilo
- eritroblasto ortocromatico
- eritrocita maturo (che ha espulso il nucleo, fagocitato i mitocondri...)

la differenziazione avviene in « nidi » circondati dal citoplasma di cellule macrofagiche.

Fasi maturazione mieloide (in particolare, maturazione di un neutrofilo):

- mieloblasto (in genere non si vede nel midollo normale)
- promielocita (la prima forma immatura riconoscibile in un midollo normale)
- mielocita

- metamielocita : giovane, un po' più maturo, molto maturo (morfologicamente si assiste a una progressiva clivatura nucleare, la quale ha un corrispettivo in biologia molecolare)
- bastoncello (il nucleo non è ancora segmentato)
- neutrofilo

Lo striscio midollare è caratterizzato da una grande eterogeneità di cellule, forme, dimensioni ; l'eterogeneità è dovuta anche alla presenza di linee eritroidi, leucocitoidi, in varie fasi di maturazione, a cui si aggiungono qualche plasmacellula, qualche linfocita B e alcuni megacariociti (le cellule più grandi presenti nel midollo (diametro circa 200micron), che se ne stanno vicino ad un vaso e infilando il loro citoplasma tra le cellule endoteliali, rilasciano nel sangue loro frammenti citoplasmatici, le piastrine).

La **valutazione della condizione midollare** include di segnalare la presenza di alcuni elementi che caratterizzano il midollo, segnalandone la normalità o l'anormalità. Questi elementi includono :

- Cellularità (densità cellulare, valutazione semiquantitativa) : 0-0,5 in aplasia, 3+ nel normale, 4+ in midollo fittamente popolato da cellule.
- Rapporto Mielo/Eritroide (quanti elementi mieloidi sono presenti rispetto agli elementi eritroidi) : normalmente 3/1.
- Granulopoiesi : valuto se è presente e se è maturante, cioè se osservo l'intera linea maturativa.
- Megacariociti
- Linfociti
- Plasmacellule
- Cellule normalmente non presenti : ad esempio cellule neoplastiche metastatiche che infiltrano il midollo.

Esempio) Rapporto M/E= 6/1 dovuto a assenza di eritropoiesi (anemia iporigenerativa, da mancanza di differenziazione eritroide), ma anche a normale eritropoiesi con granulopoiesi estremamente espansa (forma mieloproliferativa).

Il midollo osseo normale è un midollo estremamente eterogeneo, mentre il midollo leucemico (*immagine di leucemia linfatica acuta, ALL*) è dato dalla monotona ripetizione del medesimo elemento, ripetuto clonalmente (in quanto bloccato ad un unico stadio differenziativo) un numero illimitato di volte.

Il processo di maturazione ha un tempo definito di 5-7 giorni, cioè il tempo di « «transito midollare » da cellula staminale a cellula terminalmente differenziata, pronta ad uscire nel sangue periferico è di circa una settimana.

Nell'ambito delle anemie, questo significa che un evento emorragico indurrà un incremento del numero dei reticolociti dopo il tempo di transito midollare, e quindi dopo 3- 7 giorni dall'evento emorragico.

Dal momento che le anemie sono classificate in iporigenerative e emolitiche sulla base del numero dei reticolociti, bisogna tenere conto di questo fatto.

Immagine di macrofago con all'interno delle Leishmanie: la diagnosi di leishmaniosi è molto facile se fatta attraverso midollo. Si vedono parassiti all'interno del citoplasma della cellula ; il citoplasma del macrofago abbraccia completamente i parassiti.

Immagine di un network di differenziazione delle cellule midollari secondo la sistem biology molto bella secondo il prof...

Omeostasi eritroide mantenuta dall'ormone ERITROPOIETINA. La produzione di EPO dipende dalla tensione di ossigeno. Cellule che raccolgono informazioni sull'ossigeno sono in grado di trasformarle in un messaggio di induzione genica per trascrizione dell'EPO.

Anemia è una condizione in cui il valore di **emoglobina è mediamente <12g/dL**.

Grafico per dimostrare la base fisiopatologica del valore 12 g/dL: concentrazione sierica di eritropoietina (in ordinate) in rapporto all'emoglobina (in ascisse) : c'è un valore che è circa 12 in corrispondenza del quale i livelli di eritropoietina salgono, ciò segnala che siamo nella zona di ipossia. Quindi questa concentrazione di emoglobina è assunta come limite più basso della zona di ipossia per definire l'anemia. Chiaramente da qui in avanti, la quantità di emoglobina non è più sufficiente per garantire la normale ossigenazione dei tessuti. Inizialmente la mancanza di ossigenazione è piccolissima, ma via via si va incrementando.

Lasciando stare l'universo dei regolatori citochinici, chemochinici, interleuchinici della differenziazione, ci prestiamo ad analizzare alcuni fattori che svolgono un ruolo molto importante nell'ambito delle anemie. Questi **FATTORI INDISPENSABILI PER UNA NORMALE ERITROPOIESI** sono :

- **ferro**
- **folati**
- **vitamina B12**
- **vitamina B6** (la sua carenza determina forme di anemie abbastanza rare, statisticamente poco frequenti)

ma soprattutto sono fondamentali ferro, folati e B12. Una carenza di uno o più di questi fattori compromette in modo grave l'eritropoiesi.

La **vitamina B12** fu scoperta intorno al 1930 e i tre medici che ne scoprirono il ruolo ebbero il Nobel per la Fisiologia e la Medicina. Fino al 1930 si ignorava l'esistenza di questa vitamina, il suo ruolo nell'eritropoiesi e la condizione patologica conseguente alla sua carenza : l'**anemia megaloblastica** e **anemia perniciosa** come caso specifico. Quest'ultima è infatti dovuta all'assenza di Fattore intrinseco, peptide gastrico che permette l'assorbimento della B12 .

Inizialmente l'anemia perniciosa era poco distinta da una leucemia, perchè il quadro midollare di un'anemia megaloblastica è dato dalla presenza di grandi cellule immature (megaloblasti) che potrebbero anche essere dei blasti e perchè questi pazienti morivano della loro anemia, come succede ancor oggi in molti pazienti con la leucemia acuta che non rispondono ai trattamenti e che muoiono dell'anemia, della leucopenia e della piastrinopenia.

La scoperta della vit B12 ha, naturalmente, trasformato la diagnosi di questi pazienti, che da una condanna a morte sono passati ad una guarigione ottenuta molto semplicemente mangiando, a quel tempo, estratti di fegato ricchi di questa vitamina, se non era una forma di perniciosa ovviamente.

C'è un parallelo più recente (*anni che il prof dice di aver vissuto...*) con un'altra forma leucemica : la **leucemia acuta promielocitica**. Questa leucemia era letale per quasi tutti i pazienti, in quanto induceva una coagulazione intravascolare disseminata in fase precoce, che portava i pazienti ad una morte emorragica. Oggi la leucemia promielocitica non è più letale, anzi è una delle forme con la miglior sopravvivenza : praticamente tutti i pazienti sopravvivono e guariscono, grazie alla vitamina A, o meglio, la sua forma trans : l'**acido all-trans retinoico**. Questa vitamina è in grado di sbloccare il meccanismo che porta all'accumulo delle cellule blastiche, in questo caso l'accumulo di promielociti, di sbloccare il blocco differenziativo e di indurre la progressiva differenziazione di questi gameti a neutrofili maturi. Da un midollo completamente sostituito, prendendo per bocca l'acido oltransretinoico, si osserva nel midollo la progressiva comparsa della differenziazione mielode fino ad una remissione completa e quindi il ripristino di un emocromo assolutamente normale.

TEMPO DI VITA DELLE CELLULE DEL SANGUE

- Globuli rossi : 120giorni una volta fuoriusciti dal midollo
- Granulociti : pochi giorni (variabili, a seconda del consumo intratissutale, condizioni di flogosi o meno)
- Linfociti : da alcune settimane ad anni
- Monociti : vita variabile, da pochissimo a vari mesi, a seconda delle condizioni flogistiche,infiammatorie.
- Piastrine : 7giorni

Cosa determina la **fine degli eritrociti ??**

Esiste un **check point** della loro qualità e della loro funzionalità a livello della milza.

A livello splenico la funzionalità eritrocitaria viene valutata in base alla flessibilità del globulo rosso : un globulo rosso giovane è un globulo rosso estremamente flessibile, che sa adattare le sue membrane e il suo contenuto a condizioni che richiedono estrema variazione rispetto alla morfologia di base.

*L'adattabilità morfologica di un globulo rosso funzionale è da paragonare a una coperta ; una **flessibilità** estrema che però non è passiva come quella di una coperta, ma **attiva**, mantenuta da processi enzimatici di produzione e consumo di energia.*

Questa flessibilità è indispensabile affinché il globulo rosso riesca, transitando attraverso il microcircolo, a trasferire ossigeno dall'emoglobina ai tessuti e possa raccogliere anidride carbonica e trasferirla poi nei polmoni. Un eritrocita in grado di far questo è funzionale, uno che invece perde questa flessibilità è invecchiato, non funzionale, d'ostacolo all'ossigenazione e deve essere eliminato.

Immagine : il globulo rosso sta cercando di passare attraverso un seno splenico. Per riuscire ad uscire dalla polpa rossa della milza, deve riuscire a modificare notevolmente la propria forma attraverso estreme clivature, per superare gli strettissimi istmi splenici. I globuli rossi vengono testati in questo modo **più volte nel corso della giornata**. Se il globulo rosso non riesce a superare questo check point rimane intrappolato a livello del seno e pian piano i macrofagi che tappezzano il seno avvolgono il loro citoplasma intorno ad esso e lo fagocitano distruggendolo. Una volta fagocitato, viene decomposto. Questa fagocitosi assomiglia molto ad un processo autofagico in cui le strutture del globulo rosso vengono decomposte e riutilizzate:

- proteine

- eme : trasformato in bilirubina, la bilirubina trasferita a livello epatico dove viene coniugata con l'acido glucuronico e trasferita nella bile, dove svolge la sua funzione a livello intestinale
- ferro : recuperato, trattenuto in depositi e poi riutilizzato
- amminoacidi dell'emoglobina : riutilizzati

Questo rende ragione di un aspetto molto rilevante dal punto di vista clinico che caratterizza tutte le condizioni in cui vi sia un'incrementata distruzione di globuli rossi in periferia (e per periferia si intende prevalentemente l'emolisi a livello splenico ; l'emolisi intravascolare è una condizione clinico-patologica estremamente grave). **Il paziente che ha un'emolisi periferica accentuata è itterico** perchè aumenta la produzione di bilirubina preepatica (indiretta, non coniugata da acido glucuronico, legata ad albumina).

La concentrazione di bilirubina è inversamente proporzionale alla riduzione della sopravvivenza dei globuli rossi.

Se ho una condizione in cui i globuli rossi, per qualunque motivo, anzichè 120giorni vivono 60giorni, e quindi sono demoliti precocemente a livello splenico, significa che la produzione di bilirubina raddoppia nell'unità di tempo considerata, e quindi se il metabolismo epatico della bilirubina non è perfetto, non è in grado di far fronte a questa eccessiva richiesta di coniugazione di bilirubina, essa tenderà ad accumularsi nel sangue, con sfumature sempre più giallognole e verdognole, sempre più intense a seconda della quantità di bilirubina che si accumula. In queste forme l'ittero è dato sempre da bilirubina indiretta, indiretta perchè non passa il filtro renale, perchè legata a albumina, quindi è un ittero acolorico perchè le urine sono normali, a differenza dell'ittero epatico (ittero da stasi), in cui aumenta la bilirubina diretta, idrosolubile e che perciò passa nel plasma e più attraversar il filtro renale, colorando di scuro le urine.

Domanda : in un **soggetto splenectomizzato** in circolo sono presenti un maggior numero di globuli rossi invecchiati ?

Risposta : Sì nello striscio periferico del soggetto saranno presenti anomalie indicative della mancanza di filtro splenico.

Naturalmente esistono altre zone dell'organismo in cui può esser attuata un'attività di filtro, ad esempio il sistema reticolo endoteliale a livello epatico (*il prof dice che per motivi di tempo, quest'anno ha deciso di saltare questa parte, però data la domanda ce ne fa un accenno*) :

L'ematopoiesi nel corso dell'embriogenesi inizia a livello epatico e solo alla fine della vita intrauterina e nei primi mesi, si trasferisce letteralmente (nel sangue la si vede transitare) dal fegato al midollo osseo dove poi resterà tutta la vita. L'eritropoiesi extramidollare, intraepatica e splenica però resta scritta da qualche parte, perchè esiste una condizione ematologica in cui la **mieloeritropoiesi extramidollare riprende** ed è la **mielofibrosi idiopatica**. Ogni differenziazione è passibile quindi di dedifferenziazione : quello che fino ad alcuni anni fa era un dogma intoccabile e cioè che la differenziazione va in una sola direzione e perciò non può tornare indietro, non corrisponde nè ai dati di laboratorio che noi oggi abbiamo, nè ai dati della clinica se valutati in modo corretto. Lo switch eritropoietico, che comporta una riconversione completa dell'organismo per quanto riguarda l'ematopoiesi, è evento differenziativo estremamente complesso e sofisticato, e in certe condizioni il trasferimento di complesse vie differenziative da un microambiente ad un altro può essere reinvertito.

Quindi, per rispondere alla domanda, fegato e milza sono due organi emopoietici importanti nel corso della vita intrauterina, e conservano nel corso della vita adulta l'aspetto emocateretico, la milza in particolare in modo più efficiente e sofisticato, ma in assenza di milza il fegato si « ingegna » per far il possibile.

La splenectomia è comunque segnalata dalla presenza di eritroblasti in circolo alterazioni della morfologia, dall'alterazione dei globuli bianchi perchè la milza è un organo duplice : da una parte col sistema meccanico descritto, valuta l'efficienza dei globuli rossi, dell'altra è l'organo in cui viene prodotta l'immunità umorale, gli anticorpi del nostro organismo vengono prodotti in genere nella milza ; quando si acquisisce l'immunità per vaccinazione o perchè si ha avuto la determinata malattia è la milza che produce gli Ab. La splenectomia oltre ad un riassetto dell'emocateresi, comporta soprattutto un deficit di immunità umorale.

Per proceder alla splenectomia è oggi obbligatorio sottoporsi ad alcune vaccinazioni, proprio perchè l'assenza di milza espone a condizioni settiche fulminanti legate allo pneumococco, all'haemophilus influenzae e ad alcuni altri germi capsulati per i quali l'immunità umorale è particolarmente importante, che a livello della milza oltre che ad essere prodotta è mantenuta come memoria immunologica.

LE ANEMIE – classificazione fisiopatologica

- **anemie iperemolitiche** : causate da una riduzione della sopravvivenza media degli eritrociti. Riduzione ad opera di meccanismi periferici, quindi si ha un midollo rosso normale, anzi iperstimolato dall'incremento dell'eritropoietina che tenta di compensare l'anemia. Questo tentativo di compenso è segnalato dal numero dei reticolociti che aumenta.
- **anemie iporigenerative**: il meccanismo è l'opposto, ossia un'inadeguata produzione di eritrociti,eritropoiesi insufficiente, segnalata dal basso numero di reticolociti.
- **anemie postemorragiche** (però non sono vere e proprie malattie del sangue)

a questa classificazione va sovrapposta la **classificazione morfologica** (a seconda del volume dei globuli rossi) :

- **microcitica**
- **macrocitica**
- **normocitica**

Schema dal capitolo sulle anemie della prossima edizione McGraw-Hill, scritto dal prof: **classificazione comparata delle anemie in cui classificazione fisiopatologica e morfologica sono state integrate** :

Innanzitutto la distinzione tra iperemolitica e iporigenerativa viene fatta sulla base dell'**indice reticolocitario** : **>2,5 per le iperemolitiche e < o = 2,5 per le iporigenerative.**

indice reticolocitario= n.reticolociti * (concentrazione emoglobina paziente/concentrazione emoglobina nel soggetto normale)

può sembrar una complicazione ridicola ma in realtà è di aiuto. Esempio : ho 6 di emoglobina, 130000 reticolociti, ho un incremento di reticolociti rispetto al valore normale che è 70000, ma non è un incremento adeguato al livello di emoglobina che io ho. L'indice reticolocitario esprime molto bene quest' aspetto.

Esistono forme che hanno un aumento di reticolociti ma sono di fatto iporigenerative, l'esempio più semplice è quello delle **talassemie**. Le talassemie potrebbero essere classificate tra le forme di iperemolitiche perchè vi è una distruzione degli eritrociti a livello splenico con riduzione della loro sopravvivenza, ma sono in realtà anche iporigenerative perchè la distruzione eritrocitaria avviene anche a livello intramidollare (e si manifesta come eritropoiesi inefficace : indice reticolocitario <2,5 : c'è un'inefficace tentativo di compenso a livello midollare (numero dei reticolociti basso in rapporto all'anemia)).

Questa classificazione ci dice che le forme IPORIGENERATIVE si distinguono in due classi :

- ERITROPOIESI INEFFICACE (midollo ricco di cellule che anzichè maturare muoiono per apoptosi)
- IPOPROLIFERAZIONE MIDOLLARE (midollo povero di cellule) esempio aplasia

(cerco di riportare lo schema mostrato...)

IPORIGENERATIVE (IR < 2,5)

ERITROPOIESI INEFFICACE

MICROCITICHE

- Difetti citoplasma/alterata sintesi globinica (deficit di Ferro/sideropenia)
- sindromi talassemiche

NORMOCITICHE

- anemia falciforme

IPOPROLIFERAZIONE MIDOLLARE

NORMOCITICHE

- Danno staminale (aplasia)
- ridotto stimolo
- sostituzione

MACROCITICHE

- difetti nucleari/difettosa sintesi dna (deficit B12, folati)
- mielodisplasia

IPEREMOLITICHE (IR >2,5)

**INTRAGLOBULARI
NORMOCITICHE**

- difetti di membrana
- difetti enzimatici

**EXTRAGLOBULARI
NORMO o MACROCITICHE**

- trauma
- parassiti
- immuni

Le sindromi talassemiche e l'anemia falciforme potrebbero anche essere classificate tra le iperemolitiche, da consumo periferico perchè i globuli rossi delle beta-talassemie e dell'anemia falciforme spesso vivono meno di 120giorni, tuttavia entrambe le condizioni hanno un indice reticolocitario basso, cioè sono caratterizzate da ridotta sopravvivenza in periferia e da un midollo

iporigenerativo con eritropoiesi inefficace perchè il danno congenito che provoca morte in periferia, provoca la morte di un grande numero di cellule eritroidi anche a livello midollare.

SINTOMATOLOGIA DELL'ANEMIA

- **sintomi generali** riguardano qualunque tipo di anemia e sono essenzialmente **legati all'ipossia**
- **sintomi di adattamento cardiocircolatorio all'ipossia** (tachicardia, calo pressorio, sensazione di freddo)
- **sintomi direttamente da ipossia** (vertigini, pallore, dispnea da sforzo, faticabilità, depressione)
- **sintomi specifici.** Esempio le anemie iperemolitiche, da aumentata distruzione periferica, saranno segnalate dalla liberazione nel sangue di sostanze normalmente contenute all'interno dei globuli rossi e che aumentano in periferia perchè è aumentata la loro distruzione. Una di queste sostanze è la bilirubina, un'altra è l'LDH un enzima di cui sono ricchi i globuli rossi, per la glicolisi anaerobia. Anche se l'emolisi avviene a livello splenico, una certa quantità di emoglobina sfugge ai meccanismi di demolizione e fagocitosi, entra in circolo e viene neutralizzata dall'aptoglobina, per evitare soprattutto problemi a livello renale: una diminuzione della quantità di aptoglobina segnala che i globuli rossi perdono emoglobina.

In seguito ad una domanda il prof aggiunge che tra i segni di emolisi c'è anche l'iperpotassemia, sia in vitro indotta per errore (pseudopoterpotassemia), che in vivo, ma in vivo esistono sistemi tampone molto efficienti quindi affinché si registrino variazioni di questi valori in vivo deve esserci un'emolisi davvero drammatica.

Il prof dice che non si dilungherà oltre sull'eziologia di segni e sintomi della malattia, ma vorrebbe che noi imparassimo a correlare segni e sintomi di una malattia alla fisiopatologia, in modo che le l'elencazione di segni e sintomi trovi una specifica relazione alle condizioni fisiopatologiche...

Lezione di Ematologia del 7/11/2013 (1)

07-11-13 EMATOLOGIA

Sbobinatore: Milani Anna Revisore: Borghesani Anna Professore: Giovanni Pizzolo

ANEMIA SIDEROPENICA L'anemia sideropenica è una patologia piuttosto frequente, che di sicuro si incontrerà nel proprio percorso professionale. In questa lezione verrà dato anche un inquadramento non solo fisiopatologico, ma anche generale con aspetti pratici della suddetta patologia, essendo estremamente rilevanti, perchè nonostante sia banale, impone uno stile di vita molto sacrificato alle persone. Colpisce prevalentemente le donne, e **poco meno del 50% della popolazione femminile**, in qualche momento della sua vita, va incontro a problematiche legate a questa malattia.

CASO CLINICO 5 Donna 34 anni, con 2 figli (3 e 1 anno), stile di vita e abitudini alimentari regolari, insegnante elementare, stressata (denominatore comune per molti), si sente stanca da tanto tempo. Nell'ultima gravidanza, un anno prima, agli esami routinari è stata dimostrata un'anemia, ma non ha dettagli da darci. Per essa le sono state prescritte vitamine e ferro per bocca, assunte per un periodo molto breve in quanto le comportavano pesantezza e bruciore di stomaco. Riferisce che da almeno due anni perde molti capelli, unghie fragili, ragadi, frequenti mal di testa, difficoltà a concentrarsi. E da circa sei mesi accusa una sostenuta astenia e dispnea vera e propria per sforzi anche modesti (rampa di scale). Il medico curante nota pallore intenso, tachicardia (96 pulsazioni/min) e prescrive alcune indagini: ECG EMOCROMO: Hb=6.7 gr/dl, è una notevole anemia, è un dimezzamento del suo patrimonio emoglobinico, che indica un'assai ridotta capacità di ossigenazione MCV 61.2 fl MCH 15.8 pg MCHC 25.8 gr/dl GB 5800 /ml Piastrine 413.000 /ml tendenzialmente alte Inviata all'ematologo, che le riferisce d'aver un'**anemia ipocromica e microcitica**. Ipocromica perchè ha un MCH alquanto ridotta, e microcitica perchè le dimensioni dei globuli rossi sono piuttosto piccole (riduzione MCV). A domande precise, che in queste situazioni devono essere sempre fatte, (come sono le sue mestruazioni? A che età le ha avute? con che frequenza? Quanto le durano?), la signora risponde che: - da sempre le mestruazioni avvengono dopo 25-28 giorni, piuttosto ravvicinate, con durata di 5-6 giorni, e forse a suo dire abbondanti. - ha allattato al seno. Immagine EMOCROMO della paziente: HCT: ridotto HB: 6.7 gr/dl MCV 61.2 fl MCH 15.8 pg MCHC 25.8 gr/dl GB 5800 /ml Piastrine 413.000 /ml 70% neutrofili 22,5% linfociti Si nota che questa anemia era già stata evidenziata in presenti esami, un pò meno spiccata rispetto adesso, con MCV sempre ridotto. La rappresentazione grafica evidenzia che rispetto all'intervallo di normalità, la gaussiana risulta essere spostata maggiormente verso sinistra, perchè i globuli rossi sono più piccoli e la concentrazione di Hb è più bassa. (confronto con la gaussiana di un individuo normale, che rimane definito nel range di normalità). Immagine striscio periferico della paziente. Si evidenziano: -neutrofili -cellula mononucleata (linfocita probabilmente) -globuli rossi: più piccoli ovviamente dei granulociti, e con aspetto molto chiaro, per tale ragione definite. **EMAZIE IPOCROMICHE**. -piastrine Si tratta quasi certamente di un'**anemia sideropenica**, di certo è microcitica, perchè abbiamo misurato il volume attraverso l'emocromo. Sospettiamo che sia sideropenica, sulla base dell'analisi di questa persona in quanto è in una fascia d'età e di sesso femminile particolarmente predisposto alla carenza di ferro, dovuto in genere ad una discrepanza di

quanto produce rispetto a quanto consuma. Nel suo caso, probabilmente, ma sarà verificato con i dati raccolti in seguito, dovuto a mestruazioni abbondanti.

Vengono perciò prescritte le seguenti indagini: Dosaggio della concentrazione di ferro, valutazione in percentuale della saturazione della transferrina, e della ferritina.

I risultati sono: Sideremia: 17 microgr/dl (valori normali 37-145) TRANSFERRINA 4,16 gr/l (v.n. 2-3,50), quindi molto aumentata con saturazione modesta: Saturazione 4% (v.n. 16-40%), i livelli di saturazione sono strettamente legati alla concentrazione di ferro Ferritina 2microg/l. (v.n.18-20), cioè deposito di ferro praticamente inesistente. Ecco quindi confermata la diagnosi di anemia ipocromica sideropenica, dovuta a carenze di ferro per perdite croniche iper-poliamemorrea (dove "iper" indica tante, e "poli" frequenti perdite mestruali). Viene pertanto prescritta una terapia marziale, cioè a base di ferro, per bocca spiegando dettagliatamente alla paziente la fisiopatologia della sua anemia. Assolutamente non deve essere dimenticato e tralasciato questo momento, altrimenti la paziente ripresenterà di nuovo gli stessi sintomi, o non sarà collaborativa. La paziente viene poi inviata al ginecologo, poichè indagli sull'iper-polimenorrea e possibilmente ne ponga rimedio.

CASO CLINICO 6 Maschio 65enne, ferroviere in pensione, 3figli, 4 nipoti, fuma 15 sigarette al giorno,3/4l di vino al giorno, poche verdure, anamnesi patologica remota: niente di significativo, alvo e diuresi regolari (modesta nicturia), da qualche anno Modica ipertensione arteriosa controllata con ACE inibitori, nel complesso sta bene, ma da un pò di tempo è stanco. Indagini con dati recenti rilevano un'anemia, meno importante (di 9,7 gr/dl) che è ipocromica (MHC 22,7 pg), microcitica (MCV 69.7 fl) Sideremia 23mg/dl Transferrina 3,82 g/l Ferritina 6 microg/l Non ha disturbi gastroenterico ed altri sintomi. Gli vengono prescritte alcune indagini per la ricerca di altre possibili cause di perdita cronica di ferro come: -ricerca di sangue occulto nelle feci -EGDS (esofagogastroduodenoscopia)e, essendo negativa, anche poi una colonscopia. Perchè le eventuali cause che possono essere sconosciute sono le patologie legate al tratto gastrointestinale, a differenza di altre paesi, come emorroidi sanguinanti da anni, o episodi di sangue da naso per più volte alla settimana. La colonscopia mostra un rilievo mucoso a tipo lesione neoplastica circoscritta al colon ascendente. Viene fatta la biopsia che dimostra la presenza di un cancro del colon. NB: cause sideropenia Nella donna fertile: perdite mestruali Nel maschio adulto: patologia neoplastica o plastica a carico del tubo gastroenterico Viene posta quindi una diagnosi di **anemia ipocromica sideropenica secondaria a perdite dalla lesione neoplastica del colon**. Si instaura una terapia a base di ferro, per via endovenosa in maniera tale da ripristinare i valori del paziente, velocizzandone i tempi di riequilibrio di emoglobina per consentirgli l'operazione chirurgica. In seguito il paziente sarà inviato al suo medico curante. Questi due esempi paradigmatici sono i più frequenti per l'osservazione dell'anemia sideropenica.

Nota storica: e una situazione conosciuta fin dal Medioevo, nel contesto di una sindrome denominata clorofis o morbo virgineo, poichè era ricorrente nelle giovani donne. Anche i pittori fiamminghi hanno rappresentato questa patologia in diverse loro tele, e pure diversi autori nelle loro opere, tra cui Shakespeare. Questa patologia venne distinta in anemia ipocromica a carenza di ferro e inquadrata nel 1830.

Quadro delle anemie:

uno diviene anemico perchè:

-distrugge globuli rossi -> **Iperemolitiche**

-perde sangue in quantità importante (incidente stradale, rottura della milza, con rapida caduta di Hb) -> **Postemorragiche**

-non produce abbastanza globuli rossi -> **Iporigenerative** L'anemia da carenza di ferro appartiene a quest'ultima.

Qual è l'elemento di indagine suggerito dalle evidenze cliniche, anamnesi,.. che permette di distinguere tra esse queste forme? La **conta dei reticolociti**, globuli rossi appena messi in circolo, ancora giovani, distinti in base a determinate indagini e colorazioni, ad oggi contate direttamente dalle macchine e non più dai tecnici. Le anemie iporigenerative danno un numero di reticolociti diminuito (freccia verso il basso). Nelle forme postemorragiche il midollo cerca di supplire alla carenza fabbricando nel minor tempo possibile i globuli rossi che mancano, che sono stati persi (attraverso emorragie, o per cause autoimmuni o altre) o distrutti.

TIPI DI ANEMIE IPORIGENERATIVE:

- da sostituzione midollare: patologia che interrompe la produttività del midollo,perchè i precursori dei globuli rossi vengono sostituiti e rimpiazzati da cellule nocive, come nelle leucemie acute, o croniche che portano nel tempo la sostituzione del tessuto midollare.

-da aplasia midollare: quando il midollo per vari insulti, tipo immunologico, associati agli effetti collaterali di certi farmaci, che inducono danno all'emopoiesi (paziente in chemioterapia finalizzata a distruggere la malattia, ma dato che questi farmaci sparano nel mucchio, portano all'aplasia midollare, cioè temporaneo arresto della produzione di globuli rossi, bianchi e piastrine. Ma ci sono anche forme autoimmuni, immuni, idiopatiche ecc. Quindi è dovuta alla mancanza di progenitori.

- diseritopoietiche congenite, quando il macchinario di produzione dei globuli rossi è alterato perchè esistono disordini congeniti che non consentono la maturazione adeguata dei precursori dei globuli rossi.

-diseritopoietiche acquisite, o mielodisplasie.

-forme non aplastiche, o carenziali, per deficit di vitamine (B12 soprattutto), di acido folico, di ferro (anemia sideropenica).

-forme disendocrine,

-malattie croniche (n.d.r. : le citochine proinfiammatorie possono rallentare l'eritropoiesi)

La parte più importante della tabella è la quantità dei reticolociti: -pochi: Iporigenerativa -tanti: tentativo del midollo di compensare l'anemia attraverso una maggior produzione (a. Iperemolitiche e a. Postemorragiche) Le anemie iporigenerative carenziali sono riconducibili a due gruppi principali: - anemia sideropenica ipocromica microcitica - anemie megaloblastiche macrocitarie, per difetti di folati e vit. B12, anche per difetti di vit. B6, in genere le forme carenziali di vitamine sono megaloblastiche in genere, poi ci sono casi di eccezioni, ma la maggior parte dei casi è così. -iperemolitiche -postemorragiche

ANEMIA SIDEROPENICA

La forma più frequente di anemia in ogni paese del mondo. Dovuta a carenza di ferro. La carenza di ferro è la causa più frequente (anche se non la sola) di anemia ipocromica (cioè caratterizzata da una riduzione di concentrazione di Hb (< MCH e MCHC) e da

una riduzione del volume dei globuli rossi, microcitica (<MCV), dovuta al difetto di sintesi dell'emoglobina. Si iscrive tra le patologie dovute ai disordini del metabolismo del ferro, che sono molteplici.

Quest'ultimi sono distinti in due grossi gruppi, il primo legato ad una carenza di ferro, l'altro ad un accumulo eccessivo di ferro, rappresentati nella seguente tabella, senza troppi dettagli.

Esistono tra le anemie correlate al metabolismo del ferro (A), quella sideropenica (I), legata a difetti genetici del trasporto del ferro e utilizzo del ferro (II), del riciclo del ferro (III), oppure le forme legate ad un sovraccarico di ferro (B), con i relativi esempi.

i disordini del metabolismo del ferro

nelle chiavi di lettura:

IRIDA è l'acronimo di Iron-refractory Iron deficiency Anemia, legata ad una mutazione, scoperta abbastanza recentemente, ed è un'anemia sideropenica refrattaria all'introduzione del ferro. È una forma rarissima, che bisogna considerare quando un'anemia sideropenica microcitica cronica, dopo adeguata somministrazione di ferro non veda un recupero dei livelli di Hb.

La forma acquisita dell'anemia sideropenica può essere legata ad un aumentato fabbisogno, tipico delle madri che allattano per periodi molto prolungati, che porta ad un'ulteriore depauperazione dei livelli del ferro. Anche un ridotto apporto con la dieta, un malassorbimento intestinale, in primis dovuto al morbo celiaco, o alla perdita cronica di sangue (a quest'ultima categoria appartengono i due pazienti visti nei casi clinici).

A seguire, si noti altre forme più rare, che vale la pena conoscerne l'esistenza, ma che difficilmente si incontreranno.

Per quanto riguarda il secondo gruppo del sovraccarico del ferro, oggetto di studi proprio a Verona, ecco le varie patologie che possono comportare, in genere per via ereditaria. All'ematologo ciò che interessa è legato all'accumulo di ferro che si ha a seguito di una terapia trasfusionale cronica, evento frequente nei pazienti talassemici che necessitano di ripetute e periodiche trasfusioni. Con epatopatie croniche, in corso anche di malattie ematologiche tipo le mielodisplasie, alcune delle quali non sono gravi e sono forme che permettono durata di vita di anni, nel corso dei quali il paziente viene trasfuso 2-4 volte al mese. Questo accumulo di ferro può portare a danni d'organi nobili (cuore reni fegato), e perciò le aziende farmaceutiche hanno appurato tecniche che chelano il ferro presente in eccesso nei pazienti politrasfusi.

Infine, esiste l'iperferritinemia genetica e acquisita, legata ad anomalie genetiche.

Le cause dell'anemia ipocromica microcitica:

-carenza di ferro, ma non è l'unica causa. Può verificarsi per mancato apporto o perdite,

-sequestro del ferro, che non viene messo a disposizione dell'emopoiesi, come avviene in corso di infiammazioni croniche e di certe neoplasie,

-alterazione della via delle protoporfirine

-alterazione della sintesi globinica, come nelle alfa, beta talassemie

ad una domanda diretta fatta ad un paziente di cui non si sa nulla, ma con il suo emocromo sottomano, come la prima signora, si ha la certezza che ella abbia un'anemia, che sia microcitica ipocromica. Le cause possono essere o per carenza di ferro o, considerate soprattutto determinate aree geografiche (sicilia, sardegna, Rovigo) per talassemia. Il modo più semplice, ancor prima di prescrivere accertamenti più o meno sofisticati, per distinguere tra queste due forme, è chiedere alla persona. "è sempre stata anemica?", "Ha fatto esami del sangue in precedenza? Posso vederli/ me li può portare?" quasi sempre accade che una qualche carenza marziale sia presente anche negli esami precedenti, o con Hb normale. In questo ultimo caso si esclude in via assoluta una forma ereditaria genetica.

Due miliardi di persone affette nel mondo da anemia sideropenica, su un totale di circa sette miliardi. Quindi un terzo degli umani, in un dato momento della loro vita. Le cause che la provocano sono anche le abitudini alimentari, dall'indigenza, per cui nei paesi sottosviluppati, o in Africa, dove l'allattamento vien protratto fino a 3-4 anni, poiché è l'unica forma di nutrizione, si innesta un meccanismo di ridotta produzione e aumentato consumo che conduce alla carenza cronica. Non essendoci un registro delle anemie sideropeniche, non si dispone di dati epidemiologici certi, ma a detta del prof circa un decimo della popolazione italiana è affetta da questa patologia.

IL FERRO

Costituente essenziale dell'eme e dei coenzimi emici (citocromi, citocromossidasi, perossidasi e catalasi). Presente nella mioglobina e in altri enzimi non emici, non è quindi un elemento indispensabile solo per la produzione dell'Hb, ma per tutti i sistemi ed organi che utilizzano elementi che lo implicano. La quantità totale in un individuo adulto si aggira sui 3-4,5 gr distribuiti in diversi comparti:

Emoglobina, Mioglobina, Enzimi, Transferrina, Emosiderina, Ferritina.

FERRITINA

Presenta un rivestimento proteico (apoferritina) capace di assumere ioni ferrosi e di ossidarli conservandoli al suo interno (core). In condizioni normali preciso equilibrio tra quantità di ferritina dei depositi e ferritina plasmatica (utile parametro clinico per valutare l'entità delle riserve marziali dell'organismo). Un dosaggio della ferritinemia, cioè, ci consente di ottenere un dato utile

per valutare i depositi. Possono esserci situazioni in cui l'anemia non si è ancora manifestata, ma si è in presenza di una microcitosi, destinata a manifestarsi a breve (settimane-mese) man mano che le riserve calano, e possono essere valutate attraverso il dosaggio della ferritinemia. I valori normali di ferritinemia oscillano tra 15 e 250 mg/L.

EMOSIDERINA

Aggregati di molecole ferritiche prive di guscio proteico e si trova prevalentemente nelle cellule del Sistema Reticolo Endoteliale. In condizioni di grave sovraccarico si può trovare in grande quantità in tutti i tessuti corporei, quando c'è un accumulo di ferro.

TRANSFERRINA

Circola nel plasma, principale proteina di trasporto del Fe. Sintetizzata dal fegato. Capace di legare 2 atomi di Fe trivalente. Migra con la frazione beta all'elettroforesi delle proteine del plasma.

Livelli nel plasma 250-400mg/dl, circa 15-25% saturata dal ferro. Ruolo chiave nell'emopoiesi infatti cede il Fe agli eritroblasti (perchè si lega con il recettore della transferrina (TFR), a seguito avviene l'internalizzazione per endocitosi, e poi il rilascio del Fe grazie ad un pH lievemente acido all'interno della vescicola di endocitosi e all'intervento dell'ATP).

Il complesso Transferrina/TFR successivamente esternalizzato -> distacco della Transferrina che ritorna disponibile in circolo.

Rappresentazione grafica del complesso ferro-transferrina. Nell'indagine si trova il parametro del Total iron Binding Capacity (TIBC), di cui un terzo della transferrina è saturato dal legame con il ferro libero, e la restante parte rimane insatura. Ecco quindi che qualora si chieda la percentuale di saturazione, si ottiene la conferma sideropenica,

FERRO NELL'ORGANISMO

circa 3,5-4 g nell'organismo.

Composti funzionali emici: emoglobina quasi la metà del totale (1800 - 2800 mg); mioglobina (300-600 mg); enzimi (8 -10 mg).

Composti funzionali non emici: proteine ed enzimi (1 mg).

Composti di trasporto: transferrina (2 -4 mg).

Composti di deposito: ferritina ed emosiderina (200-1200 mg).

Ferro totale nell'organismo: 3000 - 4500 mg

ASSORBIMENTO DEL FERRO

Il Fe presente nell'organismo deriva dall'apporto dietetico, in base a quello e quanto mangiamo, tenendo conto della quantità che viene assorbita a livello intestinale.

L'assorbimento è influenzato da diversi fattori, ma in genere non supera più del **10% della quantità introdotta**, e avviene preferenzialmente a livello del digiuno prossimale e duodenale.

Capacità di assorbimento è regolata a seconda delle necessità dall'**"intelligenza mucosa"**, ossia da un meccanismo assai sofisticato chiarito nell'ultimo decennio e che vede un ruolo essenziale dell'EPCIDINA.

Sistema di regolazione dell'assorbimento e dell'immissione in circolo del Fe composto di diversi elementi.

Il ferro proviene dall'apporto dietetico. Mangiando normalmente, comprende dai 10 ai 30mg al giorno di ferro. Una dieta di 1000 cal ne contiene 6 mg. Se l'assorbimento complessivo è del 5-10% del ferro introdotto, introducendo 10mg al giorno significa che ne assorbiamo 5 mg, ma ne eliminiamo in condizione di normalità 1 mg. È un equilibrio molto sottile. Diete particolari, vegani, calorie ristrette, causano deficienze. Se poi i flussi mestruali sono abbondanti con perdita di circa 1 mg al giorno, per un totale di 30-40mg al mese, l'equilibrio può facilmente essere compromesso.

Per una donna in età fertile è quindi molto suscettibile e precario questo equilibrio!

ASSORBIMENTO E PERDITA GIORNALIERA

dieta congrua	~ 10-30 mg/die
dieta 1000 cal	~ 6 mg/die
assorbimento	~ 5-10 %
eliminazione	~ 1 mg/die
mestruazioni	~ 20-40 mg/mo

dov'è contenuto il ferro?

FERRO EMICO (Ferro per 100gr di alimento)

soprattutto nella carne di maiale (2 - 6 mg), di manzo (3.5 - 4 mg), di vitello (2 - 4 mg), di coniglio (2 - 3 mg), di pollame (2 - 3 mg), di pesce (1- 2 mg).

FERRO NON EMICO(Fe in mg ogni 100gr)

Fegato di Maiale: 15; Fegato di Vitello: 5; Formaggio: 0.5 - 2; Uova: 2.5; Latte: 0.2; Pane e Pasta: 1 - 2.5; Riso:0.2; Farina di Soia:12; Verdura: 1 - 2, Spinaci: 3, Vino:2 - 1.2.

FABBISOGNO GIORNALIERO

si devono distinguere fasce d'età: nascita-pubertà, prima giovinezza, adulto fertile. E si distinguono sempre i maschi dalle femmine, per le mestruazioni soprattutto, applicata nella prima giovinezza e soprattutto nella seconda giovinezza con gravidanze e allattamento che richiedono un maggiore fabbisogno. Ciò si traduce con perdite mensili ben differenziate tra quelle fisiologiche maschili, e quasi il doppio delle donne/madri.

	adolescente		adulto	
	maschio	femmina	maschio	femmina

fabbisogno
medio/die 1,2mg 1,4mg 0,8mg 1,4mg

corrispondente
a una dieta di 2000cal 2300cal 1350cal 2300ca

Il ferro necessario su base maschile è di circa 35mg come fe assorbito, che nelle femmine è un 41 vs 25 negli adulti. Così come deve essere assorbito una parte nelle varie fasi della vita.

Nell'adolescente maschio rispetto all'adolescente femmina la differenza è minore, ben più grande nell'età adulta fertile.

Le donne devono introdurre 2300 cal al giorno, per un fabbisogno di 1,4 mg. Attenzione: mangiando più di 2300cal non si incorre nell'accumulo di ferro grazie all'intelligenza della mucosa intestinale! Quando non serve assimilare ferro perchè ce n'è già a sufficienza, essa blocca l'assorbimento! È bene quindi esagerare soprattutto nelle donne l'alimentazione a base di ferro, dato che il consumo è ben più richiesto rispetto alla dose introdotta.

ASSORBIMENTO DEL FERRO DIPENDE DA VARI FATTORI:

- **Fattori intraluminali**

-Quantità di Fe dietetico

-Forma chimica del Fe dietetico, per esempio delle carni.

-Fe eminico (mioglobina o Hb nelle carni)

-Forma ionica solubile ferrosa (lo ione ferrico Fe^{3+} viene ridotto a ione ferroso Fe^{2+} prima dell'assorbimento a livello duodenale (citocromo beta-reduttasi)

-pH gastrico, ridotto da farmaci per la riduzione, anche minima, dell'acidità gastrica nella dieta

Agenti chelanti, varie sostanze possono determinare la precipitazione del Fe in forma ferrica insolubile) come: EDTA (tra i conservanti), tannati (presenti nel tè), ossalati e fosfati.

Sostanze facilitanti l'assorbimento:

-Ac. ascorbico e citrati (riducono il Fe in forma ferrosa libera e solubile)

- **Caratteristiche della mucosa enterica**

-Diminuzione della superficie assorbente, per asportazione dello stomaco.

-Alterazioni delle cellule epiteliali

-Motilità intestinale, morbo celiaco.

-Quantità di Fe incorporato nell'epitelio intestinale

- **Fattori legati all'organismo**

-Riserve di Fe, legato all'intelligenza mucosa.

-Turnover del Fe (in corso di infiammazioni croniche, di anemie sideroblastiche, alterazioni del SRI), quando il ferro viene sequestrato e non più reso disponibile.

-Emocromatosi ereditaria

-Disordini metabolici (porfiria cutanea tarda, la transferrinemia congenita)

Capacità di assorbimento regolata a seconda delle necessità ("intelligenza mucosa")

Ruolo essenziale dell'**EPCIDINA**.

L'EPICIDINA regolatore del trasporto del ferro. Diminuisce l'assorbimento del Fe. Peptide di 25 aminoacidi sintetizzato dal fegato a seguito dell'assorbimento intestinale del Fe. La sintesi influenzata anche da stimoli infiammatori (IL-6, stimolata durante infiammazioni croniche, malattie reumatologiche,...) la Sintesi è soppressa dall'anemia o dall'ipossia. Riduce la cessione di Fe dai macrofagi. Modula l'espressione di proteine di membrana eritrocitaria coinvolte nell'assorbimento del Fe. Inibisce il rilascio di ferro alla transferrina circolante legandosi alla proteina transmembrana ferroportina, determinandone l'internalizzazione e la degradazione lisosomiale.

L'epcidina inibisce direttamente la ferroportina, che è una proteina transmembrana che trasporta il ferro fuori dalla cellula. La ferroportina è presente nei macrofagi e nella membrana basale degli enterociti duodenali. Inibendo la ferroportina, l'epcidina inibisce il rilascio di ferro nel sangue da parte degli enterociti, riducendo quindi l'assorbimento del ferro. Inoltre inibendo anche la ferroportina macrofagica, l'epcidina inibisce anche il rilascio in circolo del ferro già presente nell'organismo.

L'EPCIDINA È IL REGOLATORE DEL FERRO! (schema riassuntivo slide 40).

CICLO DEL FERRO

La maggior parte del Fe si trova nell'Hb circolante, nei GR (globuli rossi) (2-2,5 g). viene riutilizzato per la sintesi dell'Hb dopo la morte dei GR, è quindi un ciclo piuttosto conservativo. Passaggio dai macrofagi alla transferrina agli eritroblasti nel Midollo Osseo.

L'assorbimento è minimo e mira a compensare le perdite fisiologiche.

ANEMIA SIDEROPENICA- EZIOLOGIA

- **APPORTO RIDOTTO:** dieta povera con scarso contenuto di carne (i 10g al giorno sulla pasta non sono sufficienti!)
- **ASSORBIMENTO RIDOTTO:** per gastrectomia, gastrectomia, gastrite atrofica che porta ad un'anomalia dell'epitelio della mucosa gastrica, malassorbimento (celiachia).
- **AUMENTATO FABBISOGNO:** gravidanza e pubertà
- **PERDITE AUMENTATE:** una perdita di sangue seppur abbondante (2l) a seguito di un incidente, non sarà causa di un'anemia sideropenica, ciò che causa una riduzione è lo stitico cronico, dovuto ad esempio a perdite ginecologiche o dal tubo digerente (neoplasie, ulcere, ragioni per cui si fa l'EGDS, o angiodisplasie, soprattutto negli anziani a motivo della formazione di angiectasie neoplastiche che danno perdita cronica) e da altre sedi.
- **DONAZIONI DI SANGUE**

ANEMIA SIDEROPENICA – CAUSE

Iper-polimenorrea

Gravidanza e allattamento

Stato di indigenza, che coinvolge i Paesi sottosviluppati

Varici esofagee e gastriche, per interessamento di cirrosi epatiche

Gastrite erosiva, gastrite autoimmune

Neoplasie gastriche

Ulcera duodenale

Steroidi, salicilati, alcool

Malattie infiammatorie croniche dell'intestino

Infezione da Helicobacter Py

Diverticolosi, poliposi

Carcinomi del colon-retto

Varici emorroidarie

Celiachia

Trombocitopenie e altre diatesi emorragiche

Teleangectasia ereditaria

Ematurie

Donazioni di sangue

Altro

SINTOMI generici LEGATI ALLA CARENZA MARZIALE

COILONICHIA, unghie concave (a cucchiaio).

STOMATITE ANGOLARE e glossite (bruciore della lingua quando si beve o si mangia)

GASTRITE

NEURALGIE

ESAURIBILITA' MUSCOLARE

AMENORREA

RIDUZIONE CONCENTRAZIONE

RIDUZIONE MEMORIA A BREVE

DISTIMIA DEPRESSIVA, alti e bassi

DEFICIT FUNZIONALE Linfociti T e PMN

Tutti questi sintomi sono legati alla CARENZA di Fe NEI TESSUTI, o in EPITELI A RAPIDO

RINNOVAMENTO, o per lo STRESS OSSIDATIVO, o ad ENZIMI del Sistema Nervoso Centrale e PERIFERICO.

SINTOMI specifici LEGATI ALL'ANEMIA

astenia, dispnea, tachicardia sono legati all'ipossia periferica.

Stipsi, anoressia, nausea, malassorbimento, perdita peso sono legati all'ipossia periferica e poi cefalea, tremori, vertigini sono dell'ipossia centrale.

DAL SOSPETTO ALLA DIAGNOSI

valutazione critica dei dati dell'emocromo

anamnesi!

se anamnesi non coerente con il sospetto clinico considerare eventuali diagnosi differenziali con altre forme di anemia ipocromica microcitica
valutazione dello stato del ferro (sideremia, transferrina, ferritina)
eventuali altri accertamenti biochimici (indici di flogosi, altro)
Ricerca del sangue occulto nelle feci
EGDS
colonscopia
clisma del tenue
eco addome
aspirato midollare

SCHEMA RIASSUNTIVO: tabella slide 54.

RISCHIO DI SIDEROPENIA NELLA DONNA IN ETA' FERTILE

- perdite mestruali (>80ml/mo, 40mg Fe/mo)
- gravidanza
- dieta
- povertà, appartenenza etnica

GRAVIDANZA E FERRO

aumento della massa circolante
volume del plasma espanso
fabbisogno nutrizionale del feto

ferro richiesto: 3 – 4 mg/die, nella terza e quarta settimana di gravidanza aumenta notevolmente la quantità richiesta rispetto alla situazione basale.

TERAPIA DELLA CARENZA DI FERRO

1. identificazione della causa
2. somministrato per os, a stomaco pieno (se male tollerato)
3. dose ideale: 200 mg al giorno
4. solfato ferroso (Fe⁺⁺, 100 mg)
5. altre formulazioni
6. no supporto eritrocitario
7. durata adeguata! Per mesi! Se la causa è stata in seguito rimossa, la situazione è stata risolta per sempre, ma se una ragazza ha mestruazioni abbondanti, e che il ginecologo non riesce a regolare, fino alla menopausa, dovrà continuare per tutti gli anni a prendere il ferro per garantire l'equilibrio.

LE CAUSE PIÙ COMUNI DI FALLIMENTO DELLA TERAPIA PER BOCCA

1. errore nel calcolo delle dosi e dei tempi
2. errore o trascuratezza del paziente nell' eseguire le prescrizioni
3. assorbimento inferiore a quello teorico medio previsto
4. sottovalutazione delle perdite di sangue che si verificano durante la terapia errore nella diagnosi
5. coesistenza o comparsa di un processo infiammatorio che interferisce negativamente con l' utilizzazione del ferro e la sintesi di emoglobina

Lezione di Ematologia del 14/11/2013 (1)

EMATOLOGIA del 14/11/2013

Sbobinatore: Alessio Mantovani
Revisore: Sara Bersani

Anemie iporigenerative

Le forme iporigenerative includono tutte le forme di indice reticolocitario

Le forme iporigenerative si distinguono in 2 sottoclassi: anemie caratterizzate da **eritropoiesi inefficace** (anemie a “midollo ricco”), quindi con un’estesa popolazione eritropoietica a cui corrisponde però inadeguata maturazione con eritropoiesi inefficace; la seconda sottoclasse a “midollo povero”, **ipoproliferativo**.

- Nell’**eritropoiesi inefficace**, il midollo ricco è caratterizzato da un’elevata quantità di morte apoptotica intramidollare nel corso della maturazione eritropoietica: esso è espanso, ricco, cerca di compensare, ma non riesce a maturare.
- Al contrario nelle **ipoproliferative** l'eritropoiesi è francamente carente, scarsa, quasi assente.

Le forme da **eritropoiesi inefficace** a midollo ricco comprendono sia forme microcitiche che macrocitiche. La causa più frequente delle microcitiche è stata oggetto della lezione scorsa: l’anemia sideropenica. Le forme macrocitiche comprendono essenzialmente le forme megaloblastiche, cioè da carenza di vitamina B12 o folati. Esistono altre forme più rare e meno importanti dal punto di vista clinico elencate in tabella (tossicità, mielodisplasie, anemie diseritropoietiche congenite).

Per quanto riguarda le **ipoproliferative**, a **midollo povero**, troviamo: aplasia midollare, anemie da infiammazione cronica (normocitiche o scarsamente microcitiche), forme da malattie renali da deficit di EPO, forme da deficit metabolici vari, sostituzione midollare (infiltrazione neoplastica e fibrosi). In un midollo sostituito (midollo povero) la cellularità può essere molto elevata, solo che l'eritropoiesi è molto bassa, quasi assente (quando parliamo di midollo povero non ci riferiamo agli elementi neoplastici o leucemici, normalmente non presenti nel midollo, ma alla quantità di linea differenziativa eritropoietica) [rielaborato, NdR].

Tra le anemie normocitiche (ipoproliferative) troviamo l’anemia falciforme, mentre nelle forme microcitiche (sempre ipoproliferative) sono inserite le talassemie: il professore fa notare che queste due forme potrebbero essere anche classificate nelle anemie iperemolitiche a causa della ridotta sopravvivenza periferica, aumentata distruzione splenica e iperemolisi, pur mantenendosi i reticolociti al di sotto di 2.5 volte il valore normale. Sono qui classificate nelle forme ad eritropoiesi inefficace perché la loro caratteristica preminente, anche dal punto di vista clinico, è l’inefficacia dell’eritropoiesi: la maggior parte degli eritroblasti vengono distrutti non nella milza ma nel midollo stesso prima della maturazione. Questa quota distrutta sommata a quella degli eritrociti che riescono a maturare e che hanno sopravvivenza diminuita (60-80 gg) comporta una chiara evidenza di iperemolisi. L’indice reticolocitario, però, appartiene al range delle forme ipoproliferative.

A questo punto il prof racconta una specie di parabola babilonese, "Dei 4 rabbì e di Domine Dio", per spiegare la difficoltà e l'opinabilità della classificazione delle malattie: è sempre possibile spostare la situazione classificativa di una certa entità nosografica.



Questi cubi rappresentano ciò che viene chiamato **eritrone**: l’insieme delle cellule orientate in senso eritroide nel midollo e in periferia. Gli eritroblasti (eritrociti nucleati) sono circa 5 miliardi x kg di midollo osseo, i reticolociti midollari sono altrettanti, i reticolociti circolanti 3 miliardi x kg, gli eritrociti circolanti 330 miliardi x kg. Da notare che nel midollo i reticolociti pronti per essere messi in circolazione sono circa pari al numero di eritroblasti in corso di maturazione, quindi c’è una buona riserva funzionale. In un soggetto normale abbiamo 16-17 g/dL di emoglobina, Hb totale circolante 800g, sopravvivenza normale di 120 giorni, produzione/distruzione ogni giorno di 7g di emoglobina (1/120).



Vediamo ora un’anemia di 10g su 100 (seconda riga e quarta riga della tabella): può essere francamente emolitica o associata ad insufficienza midollare. La differenza sta nella sopravvivenza degli eritrociti in periferia e nella quantità di Hb distrutta/prodotta: mentre in una forma emolitica franca la quantità distrutta/prodotta aumenta anche a 40g (7 volte la quantità normale), quando il midollo è insufficiente esso produce appena 7-8g (seconda riga). L’enorme espansione da 7 a 40g prodotti ogni giorno può essere in grado di compensare la distruzione eritrocitaria, ma con una sopravvivenza eritrocitaria di 20 giorni e una produzione di Hb di 40g (terza riga). Oppure, nonostante l’espansione a 40g, può essere ugualmente inadeguata a compensare perché la distruzione dei globuli rossi è ancora maggiore, quindi si assesta un equilibrio intorno a 10g/dL, quindi un’anemia (quarta riga). Quindi un midollo iporigenerativo è quello che pur con un’aumentata richiesta non risponde adeguatamente; il midollo iperemolitico è invece in grado di passare da 7 a 40g Hb compensando totalmente o parzialmente le perdite di Hb.

Per quanto riguarda le anemie da **eritropoiesi inefficace** - anemia sideropenica, falciforme e talassemie - sono caratterizzate da un’alterata sintesi dell’emoglobina (sono anche microcitiche), mentre le anemie da deficit di vitB12 e folati hanno alla base un’alterata sintesi di DNA (macrocitiche).

Le malattie diseritropoietiche congenite sono malattie genetiche ereditarie (trasmesse per via AD o AR a seconda dei casi) dovute a difetti nella riparazione del DNA, es. anemia di Fanconi. In contrapposizione si trovano in un certo senso le forme mielodisplastiche che pur avendo dei tratti clinici simili sono delle diseritropoietiche acquisite. [le ho integrate qui sulla base della risposta del prof a una domanda NdR]

Per quanto riguarda le anemie **ipoproliferative** troviamo le malattie da danno staminale (aplasia), da ridotto stimolo (infiammazione, deficit metabolico, insufficienza renale), sostituzione (infiltrazione neoplastica, fibrosi) e tutte le eritroblastopenie, ovvero carenza della serie di precursori eritroidi.

Forme megaloblastiche: sono anemie iporigenerative con midollo ricco occupato da eritroblasti grandi (megaloblasti). Il midollo è così popolato di precursori, che sono quasi tutti basofili ricchi di mRNA per la sintesi dell’Hb, da essere definito "midollo blu" a

causa della colorazione data dalla Blumberg-Giemsa. Il midollo, tuttavia, non riesce a far maturare queste cellule perché la replicazione del DNA non giunge a compimento, provocando apoptosi precoce: un chiaro esempio di eritropoiesi inefficace.

Spiegazione del metabolismo della vitamina B12 e dell'acido folico in relazione alla replicazione del DNA.



Gli epatociti sono la riserva sia di vitamina B12 sia di acido folico dell'organismo: la quantità di B12 immagazzinata è sufficiente per il fabbisogno quotidiano di 3-4 anni, mentre le riserve di folati possono sopperire al bisogno quotidiano di qualche mese.

Quindi per quanto riguarda i folati, l'apporto quotidiano è ancora più importante.

In una cellula generica, come l'eritroblasto, la folina entra nella cellula come N5-metil-tetrafolato, così come viene assorbita è trasportata nel sangue: si può notare che il link tra folati e vit B12 sta nella metionina sintetasi, che aggiunge un metile preso dai folati all'omocisteina trasformandola in metionina e per fare questo necessita della vit B12 come coenzima. I folati sono poi impiegati come tetraidrofolati nel metabolismo delle basi puriniche: questo significa che di fronte ad un'anemia megaloblastica è sempre prudente somministrare sia folati sia vit B12, perché se mancano i primi con la loro somministrazione risolviamo l'anemia megaloblastica, ma se manca la seconda e non la supplementiamo non sblocciamo la reazione enzimatica [rielaborato NdR]. La carenza di vit B12 diventa pericolosa anche per i ben più gravi danni neurologici (neuropatia sensitivo-motoria periferica) a cui si potrebbe andare incontro a causa dell'importanza della metionina nella costituzione della mielina e nell'organizzazione delle strutture lipidiche neuronali. Quindi la carenza di vitamina B12 comporta una inadeguata produzione di mielina che da luogo a una neuropatia sensitivo-motoria periferica e un alterato metabolismo lipidico intraneuronale. Inoltre vi può essere accumulo di molecole anomale che contribuiscono al deficit neurologico. Un'altra conseguenza della carenza di vit B12 è la sterilità femminile: basta però correggere il deficit e la fertilità viene recuperata [rielaborato NdR]

I folati sono assorbiti nel lume digiunale prossimale da un meccanismo non recettoriale grazie al particolare ambiente chimico, invece la B12 è assorbita tramite recettori che richiedono il suo legame al fattore intrinseco (questo nome fu dato negli anni '30 a seguito dell'osservazione che a volte la vit B12, chiamata fattore estrinseco, era sufficiente a risolvere l'anemia, mentre altre volte no: in questi casi si era ipotizzata la mancanza di fattore intrinseco, poi caratterizzato) [rielaborato NdR].

Osservando uno striscio midollare il professore fa notare che nel midollo blu la popolazione cellulare è caratterizzata da megaloblasti, molto grandi con nuclei di dimensioni notevoli, aspetto che fa pensare a dei blasti leucemici. Questo spiega perché l'anemia perniciosa (data appunto da carenza di fattore intrinseco) fosse malamente distinta dalle forme leucemiche, anche perché entrambe erano caratterizzate da un esito infausto (morte del paziente).

Occorre notare inoltre che anche le forme diseritropoietiche e le mielodisplasie si caratterizzano per l'aspetto megaloblastico e la reale evoluzione verso una forma leucemica. Questo richiama al fatto che un danno al DNA che comporta mancata riparazione (a differenza dell'incapacità di sintesi del DNA che può essere recuperata dall'introduzione della vit B12) non possa essere riparato dall'introduzione di molecole a noi note; si può però ipotizzare che in futuro si identificheranno molecole in grado di riparare il danno.



Anemia da carenza di folati: emoglobina 10,6 MCV 118 (range normale 85-100) = anemia macrocitica. Da notare che anche i neutrofili e la serie mieloide risentono della carenza di B12: spesso il quadro è quello della pancitopenia (leucociti bassi e megaloblasti), con neutrofili segmentati (nucleo ipersegmentato fino a 7 clivature nucleari), vecchi, che risaltano allo striscio periferico poiché si selezionano per l'assenza dei giovani (altra manifestazione di sofferenza midollare, sia in carenza di folati, sia di vit B12).



Per **anemia perniciosa** intendiamo solo la forma da carenza di fattore intrinseco, mentre per tutte le altre cause si indica genericamente anemia megaloblastica. Le cause principali sono l'atrofia gastrica (anche da infezione cronica di H. Pylori), quindi l'incapacità delle cellule parietali gastriche di produrre fattore intrinseco, o mancanza dello stomaco, che è ancora una condizione frequente a causa di varie patologie trattate, soprattutto in passato, con gastrectomia. Altre cause possono essere: carenze nella dieta di vitamina B12 (sono rare) ed epatopatie che impediscono la costituzione di depositi. Per quanto riguarda i folati il deficit può dipendere da una diminuita assunzione con la dieta, oppure da un aumentato consumo, come in caso di gravidanza quando il fabbisogno triplica o anche quadruplica, quindi bisogna aumentare l'apporto quotidiano. Un'altra condizione è l'età avanzata: infatti le persone da 60 anni in su tendono ad avere deficit di folati per una diminuita capacità di assorbimento. La metilene deidrofolato riduttasi svolge un ruolo molto importante in condizioni quali patologie cardiovascolari come la diatesi trombolifilica o complicanze trombotiche arteriose a livello delle coronarie o del SNC: l'attività dell'enzima può avere effetto predisponente l'insorgenza di patologie neoplastiche perché influisce sulla sintesi del DNA. Per questo in alcuni Paesi si supplementano i cibi con i folati, proprio come oggi si fa con il sale iodato.

Domanda: è possibile che un'anemia perniciosa si verifichi per l'effetto degli inibitori di pompa sulle cellule parietali gastriche?

Risposta: in linea teorica è possibile, ma in pratica non si è mai registrato: serve almeno un fattore predisponente come scarso apporto o aumentato fabbisogno.

Per far capire l'importanza della diagnosi delle anemie megaloblastiche e l'impatto che esse possono avere sulla vita dei pazienti, il professore cita 2 casi clinici. Il primo è caso di una donna di 35 anni che si era rivolta al suo ambulatorio e ci era arrivata letteralmente "trascinandosi" non tanto a causa della sua anemia (pur essendo arrivata a 3.5 g Hb/dL era ben

compensata per la gradualità dell'insorgenza), ma per la grave neuropatia periferica che le rendeva addirittura impraticabile la vita quotidiana. Questa condizione non era stata interpretata come possibile anemia né dal medico curante né da altri medici che l'avevano avuta in cura. L'anemia all'esame emocromocitometrico era palesemente macrocitica, cosicché si era provveduto alla somministrazione parenterale di vit B12 e folati alla quale la paziente aveva risposto in modo eccellente, con regressione della sintomatologia! Tra l'altro la signora non era mai riuscita ad avere una gravidanza, per questo si era rivolta a centri specializzati di stimolazione ovarica, senza ottenere alcun successo: a seguito della suddetta terapia, fortunatamente, aveva riacquisito sia la salute sia la fertilità.

Il secondo caso è quello di una signora di 40 anni che per tutta la sua vita aveva cercato di avere dei figli, ma sfortunatamente non era mai riuscita, pur rivolgendosi a centri ginecologici specializzati in Svizzera, a Milano e a Roma, per questo ormai si era rassegnata all'idea di essere sterile per una causa sconosciuta. Si era rivolta all'ambulatorio del prof per trattare la sua anemia, che si era rivelata selettiva per i folati e qualche tempo dopo la correzione del deficit era rimasta incinta [il prof. dice "10 minuti dopo aver corretto il deficit", intendendo dire che il recupero fu davvero rapido! NdR]. Adesso la figlia della signora è una giovane di 22-23 anni. Si era poi scoperto che la carenza di folati vit B12-associata (con folati carenti ma vit B12 normale, anche se al limite inferiore) era secondaria ad una parziale atrofia gastrica per una storia di *H. pylori* positivo da molto tempo.

Lezione di Ematologia del 14/11/2013 (2)

Lezione di Ematologia del 14/11/2013

Sbobinatore: Giulia Deguidi

Revisore: Lavinia Benini

ANEMIE

1. ANEMIE IPORIGENERATIVE

1. Da sintesi emoglobinica sbilanciata: TALASSEMIE
2. Emoglobine patologiche: ANEMIA FALCIFORME

1. ANEMIE IPEREMOLITICHE

1. Da causa intraglobulare:

1. Da difetti di membrana
2. Da difetti enzimatici

1. Da causa extraglobulare:

1. Immuni
2. Non immuni
3. Traumatiche
4. Ipsplenismo
5. Infestazioni (malaria)

1. ANEMIE IPORIGENERATIVE

TALASSEMIE

Le talassemie sono condizioni familiari recessive caratterizzate dalla trasmissione di alterazioni che riducono la quantità di catena emoglobinica alpha o beta sintetizzata. Si chiamano alpha-talassemie le condizioni in cui vi è un deficit di catene alpha, e beta-talassemie le condizioni in cui vi è un deficit di catene beta; delta-talassemie le condizioni in cui il deficit è delle catene delta. L'emoglobina normale è formata da due catene alpha e due catene beta, ma quando il rapporto alpha/beta non è più uguale a 1, succede che vi è un eccesso di una delle due catene sintetizzate normalmente. **La patologia è causata dalla catena in eccesso**, perché le catene in eccesso, non potendosi appaiare, formano dei polimeri che precipitano all'interno dei globuli rossi in maturazione o già maturi e provocano alterazioni irreversibili della struttura dell'eritrocita comportando:

- morte intra-midollare
- eritropoiesi molto espansa ma inefficace
- distruzione a livello splenico molto anticipata rispetto ai 120 giorni, di quella quota eritrocitaria che riesce comunque a maturare e a raggiungere il circuito periferico.

1. Si distinguono **alfa-talassemie** dovute ad assenza o ridotta quantità di catene alfa di emoglobina.

Le catene alfa sono presenti fin dal periodo embrionale, nel corso della vita intrauterina per tutta la vita adulta dell'individuo; per tale motivo le alfa-talassemie possono esprimersi a partire dalla vita intrauterina e se tale deficit risulta essere molto grave, comporta una grave conseguenza periferica per la sua crescita, per lo sviluppo degli organi normali, per l'inadeguata ossigenazione, e questo può portare a morte intra-uterina. Tale sindrome viene definita **IDROPE FETALE**, molto rara nel mondo Occidentale, dove la alfa-talassemie sono meno frequenti; le forme omozigoti danno luogo a un difetto più grave.

Tuttavia se il feto con alfa-talassemia sopravvive fino al termine della gestazione, significa che l'individuo ha un modesto deficit di catene alpha, cioè una modesta distruzione di catene alpha precoce. In questo caso nella vita adulta la malattia si presenta come modesta anemia ipocromica microcitica a cui l'individuo è solitamente ben adattato. Spesso le alfa-talassemie sono condizioni misconosciute nella vita delle persone adulte e pertanto risulta necessaria l'esecuzione di un test sulla sintesi globinica in vitro per poter calcolare un rapporto alpha/beta diverso da 1 e diagnosticare la malattia, altrimenti può essere considerata e trattata come una "banale" anemia microcitica.

Le alfa-talassemie sono più frequenti nel Sud-Est asiatico.

1. Si distinguono poi le **beta-talassemie** (molto più frequenti e importanti clinicamente) dovute ad assenza o ridotta quantità di catene beta.

Esse sono dovute a un difetto genetico che comporta una minore efficienza nella sintesi delle catene beta. Tali difetti possono essere:

1. Mutazioni puntiformi (dovute ad esempio ad inserzione di un codone di stop): si parla di talassemia beta-zero B0
2. Mutazioni negli introni o, meno frequentemente, negli esoni: talassemie B+ o B0. In questo caso si ha un'alterata produzione e stabilità di mRNA. Le mutazioni possono trovarsi:
 - A livello di siti di taglio di introni o esoni
 - Sequenze consenso presso siti di taglio
 - Formazione di nuovi siti di taglio

1. Mutazioni nelle sequenze promoter: B+ (comportano trascrizione rallentata)
2. Delezioni (rare): B0

Le forme eterozigoti tendono ad essere B+, ma non necessariamente; le forme omozigoti tendono ad essere B0, ma non necessariamente.

Le beta-talassemie sono molto frequenti nel bacino del Mediterraneo, per questo motivo sono anche definite "**Anemie Mediterranee**". La forma prevalente in Italia è dovuta a mutazione puntiforme a carico dell'esone 6, e questa comporta un riarrangiamento sterico per cui molti enzimi deputati alla trascrizione e alla traslazione non riescono a svolgere il proprio compito. Dal punto di vista epidemiologico è molto interessante l'associazione di questi difetti genetici con i bacini di endemia della malaria. Queste zone sono caratterizzate da una pressione selettiva a favore dei portatori del deficit talassemico. Si pensa che questo sia dovuto al fatto che all'interno degli eritrociti talassemici il parassita non riesca ad avere un ciclo vitale completo e quindi questi portatori sono protetti nei confronti delle conseguenze più gravi della malaria. Ciò ha indotto una pressione selettiva nei confronti di questo difetto genetico (soprattutto nella forma geneticamente meno rilevante, cioè quella eterozigote).

E' molto sfumata la differenza classificativa fra emoglobinopatie, condizioni caratterizzate da una o più mutazioni nella sequenza primaria delle catene emoglobiniche (che però di solito non si traducono in un'alterata quantità emoglobinica prodotta), e sindromi talassemiche

Clinicamente vengono classificate in tre forme:

1. **Beta-talassemia major o morbo di Cooley** (la più drammatica, omozigote)

Fattori che si sovrappongono e interagiscono col difetto genetico:

- Hb tra 4-5 g/dL (se non viene corretta terapeuticamente)
- Epatomegalia, cardiomegalia, deformazione ossa piatte e cranio, ritardato sviluppo

- Anemia ipocromica microcitica spiccata, eritroblasti circolanti, alterazioni dell'eritromorfologia
- Iperbilirubinemia indiretta, iperplasma eritroide midollare

Terapia: regime ipertrasfusionale, splenectomia, trapianto allogenico di midollo osseo (se non ci sono controindicazioni e se si riesce a trovare un donatore compatibile, ancor meglio un familiare consanguineo). Il trapianto allogenico è di difficile esecuzione al di fuori del mondo Occidentale soprattutto per il costo proibitivo.

Le catene alpha, all'interno della cellula, formano dei polimeri e precipitano; questo, all'interno del globulo rosso, ha un effetto drammatico. La sintomatologia è fortemente dipendente dall'aspetto preponderante legato alla grave anemia, cioè all'enorme espansione eritropoietica midollare. La sintesi emoglobinica è gravemente decurtata, quindi l'eritropoiesi è molto inefficace e la sopravvivenza dei globuli rossi che riescono a passare dal filtro splenico è estremamente ridotta; però, lo stimolo eritropoietinico è molto intenso. Ciò comporta un ispessimento della struttura midollare tale da deformare la struttura ossea che circonda il midollo; se tale deformazione non viene immediatamente rimediata diventa irreversibile. L'unico rimedio possibile è la trasfusione in modo da mantenere i livelli globinici intorno a 12g/dL e stroncare l'intensissimo stimolo eritropoietinico (i globuli rossi del donatore inoltre non sono talassemici). Ciò ovviamente comporta problemi legati alla necessità trasfusionale continua, soprattutto il sovraccarico di ferro; ogni sacca contiene circa 300 cc di globuli rossi e circa 200mg di ferro. L'accumulo di ferro comporta danni funzionali ai parenchimi, sempre più rilevanti. Naturalmente esistono dei metodi per ridurre la quantità di ferro che si accumula, anche se non sono particolarmente efficaci. Nel mondo Occidentale si è diffusa la pratica del trapianto di midollo allogenico, sostituendo il midollo talassemico.

1. **Beta-talassemia intermedia** (i pazienti conducono una vita normale)

Fattori concomitanti:

- Hb tra 6-9 g/dL, splenomegalia
- Anemia ipocromica microcitica spiccata, eritroblasti circolanti, alterazioni dell'eritromorfologia
- Iperbilirubinemia indiretta, iperplasma eritroide midollare

Terapia: è evitato ogni tipo di trattamento medico in quanto sarebbe controproducente. Questi individui vivono una vita assolutamente normale e non necessitano di cure incongrue ed errate (hanno una modesta anemia ipocromica microcitica, morfologicamente indistinguibile da una forma sideropenica, però questi pazienti tendono ad avere un accumulo (?) di ferro).

1. **Beta-talassemia minor** (i pazienti conducono una vita normale)

Fattori concomitanti:

- Hb normale perché c'è un compenso
- macrocitosi spiccata
- aumento del numero di globuli rossi
- Aumento Hb A2

Spesso la genetica della b-talassemia entra tra le condizioni valutate in *diagnosi prenatale*, cioè una coppia è portatrice di una beta-talassemia in forma eterozigote od omozigote? Tendenzialmente si pensa che la forma omozigote si esprimerà necessariamente nella malattia clinicamente peggiore, ovvero la forma major. In realtà uno studio effettuato su un grandissimo numero di individui talassemici ha dato dei risultati sorprendenti, cioè molte forme intermedie con un grado di anemia non particolarmente rilevante risultavano essere omozigoti, e alcuni individui eterozigoti (e che quindi secondo la genetica classica avrebbero dovuto mostrare una forma al massimo intermedia) esprimevano invece una forma clinicamente rilevante. Questo ci richiama al fatto che la genetica non risolve completamente il destino dell'individuo portatore di malattia genetica, ma che evidentemente concorrono a definire il risultato biologico finale, molti fattori che si sovrappongono, interagiscono con il dato semplicemente e crudamente genetico. Questo ci richiama a una certa cautela soprattutto nell'uso e nell'interpretazione dei dati genetici.

Domanda: questi pazienti che sono omozigoti ma esprimono una malattia meno rilevante hanno tutti la mutazione nell'esone 6? No, sono mutazioni differenti; lo studio non correlava la specifica alterazione molecolare. L'informazione derivante da questa analisi è di cautela nel trasferimento del dato genetico all'evoluzione biologica individuale che ne deriva.

Domanda: è possibile che una beta-talassemia venga anche in una persona che ha una normale produzione di beta-globine, ma un numero di alpha-globine più elevato? No; il meccanismo teorico è ipotizzabile, ma di fatto non avviene in natura.

Vediamo un *esame emocromocitometrico*: due genitori portatori di beta-talassemia ad esempio in forma minima, hanno una percentuale (ad ogni concepimento) di generare:

- 25% di figli sani
- 50% di figli eterozigoti portatori sani
- 25% di figli con la forma più grave della malattia

Diagnosi: clinicamente per poter diagnosticare una beta-talassemia si eseguono i seguenti esami in questo ordine:

1. Dosaggio del ferro
2. Ricerca di indici di emolisi (ittero, iperbilirubinemia indiretta, anemizzazione importante)
3. Incremento di Hb A2 sul 5-7% (anziché avere come in condizioni normali un 1-2%)
4. Anemia ipocromica microcitica
5. Diagnosi genetica

ANEMIA FALCIFORME

Causa: mutazione puntiforme a carico di un amminoacido (valina al posto dell'acido glutammico) della catena beta dell'emoglobina. Le varianti delle catene globiniche sono numerosissime, ne sono state descritte 700/800, tuttavia pochissime di tali varianti ha un correlato clinico. Tale patologia ha un correlato clinico eclatante in quanto i globuli rossi di pazienti sottoposti a condizioni di ipossia, vanno incontro ad una caratteristica deformazione a falce, visibili con lo striscio di sangue periferico. Ciò è dovuto alla formazione di polimeri (per formazione di legami non covalenti) tra diverse catena beta, che precipitano nel letto capillare (appena avvenuto il transito, cioè appena dopo aver ceduto l'ossigeno; la deformazione dell'emoglobina espone i siti di legame non covalente) ostruendolo; condizionano perciò una ischemia acuta ed eventualmente necrosi della zona irrorata a valle. La manifestazione clinica della malattia consiste nella ripetizione all'infinito di questo meccanismo a livello dei vari organi e parenchimi

È una patologia recessiva che si esprime in massimo grado nelle forme omozigoti e con gradi molto minori e variabili nelle forme eterozigoti. In genere se più del 50% dell'Hb è mutata, questa dà luogo a una clinica rilevante; nelle forme eterozigoti la clinica è pressoché inesistente.

Conseguenze: infarti intestinali, renali, del midollo osseo, del SNC, dell'assetto osseo ecc... Sono manifestazioni acute
Da slide:

- *Accidenti cerebrovascolari*
- *Infarti mesenterici e splancnici*
- *Retinopatia proliferativa*
- *Necrosi della testa del femore*
- *Priapismo*
- *Infezioni ricorrenti*
- *Ulcere croniche*

Terapia:

1. Farmaci in grado di riattivare la produzione della catena gamma della Hb fetale; ha una affinità maggiore per l'ossigeno rispetto alla catena beta, ma i problemi relativi a questo fatto sono di molto inferiori rispetto alla precipitazione delle emazie falcemizzate. Tali catene gamma vanno quindi a sostituire una quota di catena beta inadeguata attenuando i danni e migliorando la qualità della vita del paziente (esempio: farmaco idrossiurea).
2. Idratazione per facilitare l'eliminazione per via renale dell'Hb liberata dai globuli rossi falcemici che precipitano a livello intravascolare
3. Trasfusione durante una crisi per ristabilire livelli globinici adeguati, ridurre la produzione di globuli rossi falcemici
4. Profilassi antinfettiva
5. Antalgici, ossigeno-terapia, exsanguinotrasfusione
6. Trapianto di midollo allogenico

ANEMIE IPEREMOLITICHE:

Si caratterizzano per una minore sopravvivenza degli eritrociti in periferia a fronte di una eritropoiesi assolutamente efficace.

1. Da causa intraglobulare, tutte genetiche; il globulo rosso è portatore del difetto:
 - Difetti di membrana: **sferocitosi ereditaria**, ellissocitosi ereditaria, emoglobinuria parossistica notturna (l'unica non congenita; molto rara)
 - Da difetti enzimatici a carico di: **glucosio 6-fosfato deidrogenasi** o piruvato-chinasi
1. Da causa extraglobulare, la riduzione della sopravvivenza dei GR viene acquisita nel corso della vita:

- **Non immuni:** traumatica, infettiva, chimica, metabolica
- Immuni da allo-anticorpi: reazione emolitica trasfusionale, malattia emolitica del neonato
- **Immuni da autoanticorpi** che possono essere: caldi incompleti (IgG), freddi completi (IgM) o bifasici
- **Traumatica**
- Da farmaci
- Da emorragia

- **SFEROCITOSI EREDITARIA**

Malattia AD, incidenza 1:5000 (molto frequente, ma abbastanza raramente si manifesta con una condizione clinica rilevante)
 Causa: alterazione genetica che comporta inefficienza di una o più proteine di membrana, le quali fungono da ancoraggio al citoscheletro, e permettono di mantenere la forma, lo stato di tensione della membrana, la flessibilità e la funzione dei globuli rossi: si tratta delle proteine *spectrina/anchirina*. Tale difetto comporta l'esposizione di zone più o meno ampie di strato bilipidico privo di ancoraggio, a lisi intrasplenica; il globulo rosso viene quindi ad assumere la forma di una sfera perché viene a mancare la zona centrale chiara, colpa la progressiva perdita di frammenti di membrana.

Ciò comporta una diminuzione della flessibilità e quindi lo sferocita non riesce più a restringersi e a passare attraverso il filtro splenico, ma al contrario rimane intrappolato e viene fagocitato.

Es. Se con la punta di una Pasteur (che è una pipetta di vetro) si aspira un globulo rosso normale, questo è in grado di rientrare all'interno della pipetta per un certo tratto; il globulo rosso sferocitico no, non è in grado di deformarsi.

Lo sferocita ha un'emivita di 60-80 giorni anziché 150.

Ciò si manifesta anche in vitro in ambiente ipotonico in quanto lo sferocita va incontro a lisi osmotica in tempi molto più brevi rispetto a un globulo rosso normale, proprio perché ha perso flessibilità.

- **DEFICIT DI GLUCOSIO 6-FOSFATO DEIDROGENASI**

Tale enzima interviene nelle prime fasi della glicolisi anaerobia del globulo rosso, deviando il glucosio verso il ciclo dei pentosifosfati, trasferendo un protone su un (registrazione disturbata, ndr) che poi lo trasferirà sull'apparato enzimatico deputato a contrastare i processi di perossidazione all'interno del globulo rosso. Quindi tale deficit priva l'apparato enzimatico della sua capacità protettiva verso i danni da perossidazione. Pertanto in condizioni normali i globuli rossi funzionano in modo normale, invece in condizioni di stress ossidativo, il sistema di detossificazione è assolutamente inadeguato e perciò il danno perossidativo è generalizzato e comporta lisi intravascolare del globulo rosso = **EMOLISI INTRAVASCOLARE ACUTA**.

In questa condizione l'emoglobina Hb è normale ma è libera e viene immessa direttamente in circolo; questi pazienti sono soggetti alla caduta rapida dell'Hb a valori 4-6 g/dL e in particolar modo al danno renale dovuto alla presenza di Hb libera. Quindi il quadro clinico di questi pazienti tipico è un'anemia emolitica rapidamente ingravescente che si manifesta con ittero da bilirubina indiretta, aptoglobina bassa, ADH elevato, anuria e insufficienza renale grave (poiché l'Hb blocca i tubuli del glomerulo). Tale insufficienza renale può richiedere sedute dialitiche temporanee ma può comportare perdita definitiva della funzione renale. Perché ci sia una malattia clinicamente grave è necessario che l'attività enzimatica sia ridotta al di sotto del 5-10%. Basta un 20% di attività residua per garantire un'efficienza antiossidativa al GR.

È importante identificare questi pazienti fin dalla nascita.

È una malattia legata al cromosoma X, perciò si manifesta in maniera clinicamente più rilevante nel maschio. Invece la femmina eterozigote non manifesta alterazioni cliniche rilevanti.

I pazienti sono esposti al danno emolitico provocato da *Sostanze ossidanti*:

1. Sostanze farmacologiche (antibiotici, analgesici, anti parassitari...)
2. Contenute nei cibi, come la FAVE: per questo motivo tale patologia viene anche chiamata **FAVISMO**.

Da slide:

a. emolisi cronica: subittero, reticolocitosi, splenomegalia, calcolosi bilirubina, anemia moderata

b. emolisi acuta: brividi, febbre, dolori addominali, anemia improvvisa, ittero, emobilirubinuria, emoglobinuria.

- **ANEMIE DA CAUSA EXTRAGLOBULARE**

1. *Non immuni*

La maggior parte sono forme acquisite, IDIOPATICHE negli adulti:

- Sono più resistenti al trattamento
- Tendono a recidivare o a ripresentarsi a intervalli più o meno periodici nel corso della vita di un paziente

Nei bambini la maggior parte sono forme SECONDARIE nei 15 giorni successivi a malattie infettive, Les, linfomi, virus, micoplasma, leucemia linfatica cronica (in corso di LLC, indipendentemente della fase, può insorgere anemia emolitica autoimmune generalmente da anticorpi caldi, che porta ad anemizzazione rapida del paziente. Questo processo va interrotto terapeuticamente, altrimenti l'emoglobina scende a 0 e il paziente muore) e hanno un decorso auto-risolutivo completo e definitivo.

1. *Immuni* : dovuta all'azione di anticorpi, che possono essere isoanticorpi o autoanticorpi

Classifichiamo gli autoanticorpi in:

- **Caldi**, corrispondenti alle IgG che non fissano il complemento (per questo anche detti "incompleti"). Hanno una massima affinità per l'epitopo a 37gradi, ovvero a temperatura corporea legano gli antigeni sul globulo rosso e causano *emolisi a livello splenico* per osponizzazione mediata dal frammento Fc dell'anticorpo.
- **Freddi**, corrispondenti alle IgM che fissano il complemento (per questo anche detti "completi"). Hanno massima affinità tra i 4-20/25 gradi, attivano la cascata complementare in circolo e provocano *emolisi intravascolare*.

(Caldi o Freddi dipendono dalla temperatura alla quale l'anticorpo ha la massima affinità per il titolo).

1. *Forme traumatiche*

Derivano dalla deposizione di tralci di fibrina all'interno dei vasi che vanno a tagliare il globulo rosso. Spesso sono associate a:

- Marcia
- Vizi cardiaci e protesi valvolari (esempio: anemia cronica emolitica; richiede il cambio della valvola)
- Porpora trombocitopenia: attivazione incontrollata delle piastrine (che porta alla precipitazione di fibrina) per mancanza dell'inibitore, che può essere scatenata dalla gravidanza, altre cause ignote, malattie infettive. Comporta grave anemia e piastrinopenia, quadro drammatico e a velocissima evoluzione. Tali pazienti vengono trattati con la tecnica del plasma X change, che consente di collegarli a uno strumento che sostituisce il loro plasma con plasma normale di un donatore, che contiene l'inibitore dell'attivazione piastrinica.

1. *Malaria*

Il ciclo del parassita della malaria avviene in parte all'interno del globulo rosso; quando si è formato e moltiplicato, porta alla lisi del globulo rosso: la lisi corrisponde ai picchi febbrili.

Lezione di Ematologia del 21/11/2013 (1)

LEZIONE DI EMATOLOGIA DEL 21/11/2013

Sbobinatore: Elisa Dalla Grana

Revisore: Serena Ammendola

GAMMOPATIE MONOCLONALI E MIELOMA MULTIPLIO

Il mieloma è una neoplasia maligna delle plasmacellule, cellule di derivazione B- linfocitaria del centro germinativo, deputate alla produzione di anticorpi. Nel mieloma vi è **proliferazione di un singolo clone** di plasmacellule, che si accumulano progressivamente nel midollo e che producono una quantità via via maggiore di anticorpi monoclonali recando danni a vari organi. I danni maggiori, ma non esclusivi, riguardano il tessuto osseo, il tessuto emopoietico ed i reni, organ che determinano il

quadro clinico conclamato del mieloma. In un aspirato midollare normalmente vi è un 1-2% di plasmacellule, mentre nel mieloma conclamato, in cui vi è ampia sostituzione con plasmacellule atipiche, la percentuale può salire all'80-90%. Il primo caso documentato di mieloma risale al 1844: viene riprodotta la situazione drammatica di una donna giovane di 39 anni con dolori ossei, profonde deformazioni ossee, multiple fratture patologiche, affaticabilità. Alla morte, l'autopsia rivela un midollo osseo pieno di cavità: sono le stesse cavità che si rivelano tutt'oggi all'esame radiologico come lesioni litiche a stampo senza reazione peri-lesionale, tipiche del mieloma.

(il professore sottolinea varie volte sia qui, come in molti altri momenti della lezione, la gravità della malattia e l'invalidità che ne deriva a causa delle lesioni ossee, delle deformazioni, del dolore intenso, delle fratture patologiche. Il dolore soprattutto è caratteristico di tale patologia e la contraddistingue dai linfomi.)

Ad oggi si sono fatti passi avanti riguardo la terapia del mieloma multiplo, il quale, tuttavia, resta una malattia ancora inguaribile e fatale.

Dal punto di vista strutturale, la **componente monoclonale più spesso rappresentata è quella delle IgG**, poi si trovano le IgA, IgD, IgE (rarissime) ed IgM (queste tre ultime si trovano raramente). La componente monoclonale viene continuamente secreta dal clone neoplastico, tanto da dare un pattern tipico all'elettroforesi su gel del profilo proteico dell'individuo: normalmente si trova il picco a base stretta dell'albumina, poi in progressione ci sono le alfa1, alfa2, beta ed infine le gamma a base larga. In situazioni particolari, quali l'infiammazione, ci può essere un innalzamento delle gamma globuline e al profilo elettroforetico la curva sarà più alta, mantenendo però sempre una base larga. Nelle gammopatie monoclonali, invece, la produzione massiva di gamma-globuline monoclonali determina un profilo caratteristico a curva molto alta a base stretta in corrispondenza di tali proteine. Questo profilo tipico deve mettere in allarme il medico ed eventualmente consentirgli già di porre diagnosi. L'aumento della componente monoclonale nei pazienti con mieloma multiplo, (*mostra l' esempio di un pz anziano*) può addirittura risultare in un picco di gamma-globuline che supera quello dell'albumina.

Il mieloma conclamato è molto spesso preceduto da una **fase pre-neoplastica**, definita un tempo come “gammopatia monoclonale benigna”, oggi ridefinita **MGUS**, ovvero gammopatia monoclonale di significato incerto. La seconda fase è il **mieloma asintomatico**, caratterizzata da criteri che permettono di porre diagnosi di mieloma, sebbene in assenza di sintomi da parte del paziente. Infine, la fase sintomatica (o **mieloma conclamato**) è caratterizzata da danni al tessuto osseo e alla funzione midollare, dal momento che la sostituzione del normale tessuto emopoietico con plasmacellule determina **ipofunzionalità midollare** con segni di anemia, piastrinopenia, leucopenia. La secrezione da parte del clone neoplastico di catene leggere in grado di superare il filtro glomerulare e che si depositano nei tubuli glomerulari, può determinare un **danno renale** irreversibile. Il danno osseo può portare a rimodellamento osseo con conseguente **ipercalcemia**.

La fase pre-neoplastica (MGUS) molto spesso precede il mieloma e può durare anni. Le MGUS sono molto comuni: 5% della popolazione al di sopra dei 50 anni e più del 7% della popolazione al di sopra dei 70 anni; ciononostante, solo una piccola percentuale delle MGUS evolve in mieloma: il tasso di evoluzione è infatti stato stimato dell'1-1,5% /anno. Questo significa che, ad esempio, un soggetto di 70 anni con MGUS avrà una probabilità dell'1% circa per anno di sviluppare il mieloma e che quindi a vent'anni dall'esordio di MGUS la sua probabilità sarà del 20% circa: solo una minima percentuale di persone svilupperà quindi effettivamente un mieloma. Tuttavia, in un paziente al quale sia stata diagnosticata una MGUS è necessario tener sotto controllo tale componente monoclonale, perché, in maniera anche imprevedibile, potrebbe trasformarsi in un mieloma.

Diverso è invece il tasso di evoluzione di un mieloma asintomatico in mieloma sintomatico: questo varia dal 5 al 7%, molto maggiore quindi rispetto alla percentuale di pazienti che da una MGUS sviluppa un mieloma asintomatico.

(Il professore mostra un grafico nel quale è rappresentata la prevalenza del mieloma/lustro di età in pazienti con pregressa MGUS per mostrare il tasso di evoluzione nel corso degli anni: nell'arco di 10 anni la prevalenza è del 17%, a vent'anni 30% e a venticinque anni un 39%. Sottolinea che i dati possono essere diversi in diverse casistiche, ma il concetto è che solo una minoranza di pazienti con MGUS sviluppa mieloma).

Domanda di uno studente: il mieloma è sempre preceduto da una fase pre-neoplastica?

Risposta: non sempre, ma molto spesso. La popolazione al giorno d'oggi fa frequentemente controlli di laboratorio, i quali possono comprendere il profilo proteico, che, se alterato, può mettere in guardia il medico di famiglia. Un tempo, invece, quando i controlli erano molto minori, il mieloma poteva apparire come nato d'emblée e non sappiamo se era preceduto da una fase pre-neoplastica a componente monoclonale.

Domanda di un altro studente: come deve agire il medico nei confronti di un paziente con MGUS? Deve avvisarlo circa la sua predisposizione a sviluppare mieloma oppure, data la bassa incidenza del tumore, deve semplicemente dirgli di eseguire i controlli periodicamente?

Risposta: il medico dovrebbe innanzitutto cercare di tranquillizzare il paziente, pur spiegandogli che la sua condizione potrebbe predisporre all'insorgenza del mieloma. Il medico deve sottolineare poi l'importanza di eseguire controlli periodici per tenere sotto controllo nel corso della vita l'andamento delle globuline monoclonali. (*si ribadisce più volte nel corso della lezione quanto sia importante tranquillizzare il paziente con MGUS. La fase pre-neoplastica non sempre evolve in mieloma conclamato, quindi bisogna evitare di fare “terrorismo” in queste persone: le implicazioni che tale neoplasia ha a livello psicologico e sulla qualità di vita in genere dei pazienti sono pesantissime*).

Altra domanda riguardo la diagnosi precoce di mieloma e il suo trattamento precoce

Risposta: se un mieloma viene scoperto durante un follow-up, ma questo è asintomatico, non esiste nessuna indicazione al trattamento. Il trattamento è riservato a quei pazienti con mieloma, che si trovino nella fase sintomatica della malattia. Fino a tale fase, non si instaura nessuna terapia anticipata. Questo perché ad oggi non c'è nessuna evidenza che una terapia anticipata sia utile. (*ndr: il professore ne riparlerà meglio più avanti nel corso della lezione*). Il medico deve avvertire il paziente dell'importanza di presentarsi al controllo non appena senta sintomi particolari, per permettere quindi di instaurare una terapia che sia il più precoce possibile, vista l'imprevedibilità

Il passaggio da MGUS a mieloma prima asintomatico (smouldering, che cova sotto la cenere) e poi sintomatico si basa essenzialmente su due parametri:

- quota di plasmacellule midollari >10%
- quantità di para-proteina >30g/l

(va inoltre tenuto conto del fatto che la MGUS è una diagnosi di esclusione, poiché si è in assenza di lesioni ossee e di tutto il quadro sintomatologico tipico del mieloma multiplo).

Basta che venga soddisfatto uno di questi due parametri per porre diagnosi di mieloma, il quale è peraltro ancora asintomatico e non necessita quindi di terapia.

Se invece la **proteina è particolarmente alta nel sangue e nelle urine**, se la sostituzione midollare di plasmacellule è maggiore o se è presente un **plasmacitoma**, ovvero una massa tumorale di plasmacellule, che può essere ossea o extra-ossea e se ci sono **danni multi-organo**, in tal caso si può porre diagnosi di **mieloma sintomatico, il quale va trattato**.

Il mieloma sintomatico produce danni d'organo soprattutto ossei (lesioni litiche a stampo rotondeggianti), danno alla funzione midollare, danno renale e ipercalcemia nei casi più gravi; questo deve essere trattato.

IL MIELOMA

Costituisce l'1% dei tumori ed è la seconda neoplasia ematologica dopo i linfomi. Le cause sono sconosciute. Ci sono vari fattori di rischio: l'esposizione a radiazioni ionizzanti, a sostanze chimiche (benzene, erbicidi, pesticidi,...), fattori genetici e stimolazioni croniche antigeniche.

Il mieloma è in aumento. Tale aumento è in parte dovuto al fatto che la diagnostica è migliorata, ma si deve anche al fatto che è aumentata la popolazione anziana. Il mieloma è, infatti, una malattia che colpisce soprattutto la popolazione anziana (età media dell'incidenza intorno ai 65 anni).

È una malattia molto grave ed invalidante e che, nonostante i miglioramenti terapeutici dati da nuovi farmaci e dai trapianto di midollo, che hanno notevolmente prolungato la prospettiva di vita dei pazienti, **rimane ad oggi inguaribile**.

Gli indici biumorali che possono indurre a sospettare un mieloma sono:

- profilo proteico che solitamente mostra un picco nella zona "gamma", ma che può essere anche nella zona "beta"
- un aumento della VES
- anemia normocitica
- ipoalbuminemia
- ipercalcemia
- insufficienza renale

Per la diagnosi sono necessari i seguenti indici:

- plasmacellule midollari >10%
- componente monoclonale >30g/l
- presenza di danni d'organo
- aspirato midollare in cui si evidenzia un midollo ampiamente sostituito da plasmacellule. Possono essere presenti anche plasmoblasti (più grandi rispetto alle plasmacellule, nucleo eccentrico, apparato di Golgi molto sviluppato, citoplasma fortemente basofilo, plurinuclearità e nucleoli evidenti). Ove siano presenti molti plasmoblasti la neoplasia sarà più aggressiva perché la componente cellulare è più immatura.
- Elettroforesi proteica per evidenziare la componente monoclonale sia nel siero che nelle urine (per evidenziare la proteinuria di Bence-Jones).
- Studio del midollo con agoaspirato o biopsia ossea (quest'ultima si effettua meno frequentemente, anche se fornisce un quadro più dettagliato dell'architettura midollare)
- Radiografia dello scheletro completa (cranio, colonna, bacino, emicostati, omeri e femori) per verificare un eventuale quadro di osteoporosi o di lesioni litiche

- TAC, RM o PET-TAC (la PET-TAC è una scintigrafia che associa la tomografia computerizzata con la tomografia per emissione di positroni: viene iniettato in vena uno zucchero marcato -il fluorodesossiglucosio-, il quale tende a concentrarsi nelle sedi di lesione)
- analisi della funzione midollare
- studio della funzione renale

Presentazione del MM (mieloma multiplo):

- età mediana 65 anni
- dolore osseo (75% dei casi) e progressivo calo di altezza, a causa della compressione dei corpi vertebrali dovuti a fragilità ossea
- segni di insufficienza renale
- segni di ipercalcemia: nausea, vomito, stipsi, sonnolenza, fino al coma
- sindromi da iperviscosità plasmatica (soprattutto nei rari mielomi IgM o nel morbo di Waldenstrom). Le IgM, formando dei pentameri di grandi dimensioni, possono determinare fenomeni di difficoltà circolatorie soprattutto a livello dei piccoli vasi
- astenia e grande affaticabilità
- infezioni ricorrenti (alle vie urinarie, alle vie aeree con episodi di broncopolmoniti)
- poliuria e altri segni di insufficienza renale.

La parola “*crab*” (dall'inglese =“granchio”) riassume le principali caratteristiche della malattia:

C sta per calcemia

R sta per insufficienza renale

A sta per anemia

B sta per lesioni ossee (“bone” in inglese)

Le lesioni scheletriche sono lesioni litiche a stampo, senza reazione intorno alla lesione. Il quadro generale è di rarefazione ossea sproporzionata rispetto all'età e non giustificabile con una “semplice” osteoporosi, sono presenti crolli vertebrali, fratture delle coste.

Il prof. fa vedere l'immagine di un cranio con molteplici lesioni a stampo tipiche del MM. In un'altra immagine si vede una RX di colonna vertebrale in cui si evidenzia il crollo di una vertebra, il cui corpo appare più assottigliato rispetto a quello delle vertebre adiacenti. Talvolta il crollo può interessare anche il midollo e tale evenienza va trattata come un'emergenza medica, pena la paralisi degli arti inferiori. Le fratture possono essere scomposte ed in tal caso intorno al sito della frattura si può creare un infiltrato tumorale dei tessuti molli adiacenti, con conseguente tumefazione, la quale peraltro migliora in seguito alla terapia.

SISTEMI DI STADIAZIONE DEL MM

Le due classificazioni a cui si fa riferimento per la stadiazione del MM sono quella di **Durie e Salmon** del 1988 e quella di **International Staging System**, più recente.

La classificazione di Durie e Salmon, che viene molto usata, divide la malattia in tre stadi.

Il primo stadio è quello in cui devono essere rispettati i seguenti criteri:

- moderata anemia (Hb >10g/dl)
- calcemia normale
- non avere lesioni ossee oppure avere una sola lesione ossea
- produzione contenuta di componente monoclonale

Stadio secondo: non tutti i criteri dello stadio primo né del terzo, ovvero una via di mezzo tra questi due stadi.

Stadio terzo: basta che compaia almeno uno di questi criteri:

- anemia consistente
- calcemia elevata
- molte lesioni ossee
- elevata produzione di componente monoclonale

La stadiazione quindi guarda a quanto danno d'organo è provocato dal mieloma.

C'è poi una ulteriore sotto-classificazione che divide ogni stadio in un sotto-stadio A oppure B a seconda che ci sia o meno insufficienza renale. Questo è utile per diversificare il trattamento da riservare ai pazienti: un paziente allo stadio 1A (senza coinvolgimento renale e con sintomi contenuti) avrà una terapia diversa rispetto, per esempio, ad un altro paziente allo stadio 3B con coinvolgimento renale e sintomi più gravi.

L'altra classificazione (*quella dell'International Staging System, ndr*) è più semplice perchè si basa su due parametri ematici: l'albumina e la beta2-microglobulina. Si riconoscono anche in questo caso tre stadi:

Stadio primo: albumina >35g/l

beta2-microglobulina <3,5mg/l

Stadio secondo: via di mezzo tra gli altri due stadi

Stadio terzo: albumina <35g/l

beta2-microglobulina >3,5mg/l

La sopravvivenza globale del paziente, dati questi due parametri ematici e le loro rispettive concentrazioni, cambia molto da stadio a stadio [*ndr: 62 mesi di sopravvivenza per lo stadio primo, 45 mesi per il secondo e 29 per il terzo*]. Oggi, grazie ai nuovi

farmaci a disposizione, fortunatamente le prospettive di vita si sono allungate (i dati sulla sopravvivenza, infatti, si riferiscono ad un periodo precedente rispetto ai nuovi trattamenti farmacologici).

Domanda di uno studente: qual è la causa dell'ipoalbuminemia dello stadio terzo?

Risposta: le cause possono essere molteplici: può essere un danno renale che comporta la perdita di albumina, oppure può essere l'enorme quantità di para-proteina, oppure ancora ci possono essere delle citochine attivate dalla proliferazione neoplastica, che possono inibire la produzione di albumina. Ci sono peraltro delle evidenze riguardo il fatto che le plasmacellule neoplastiche midollari possono produrre delle citochine (come l'IL-6), le quali vanno ad attivare gli osteoclasti spostando l'equilibrio osseo, che si basa su rimodellamento osteoclastico e apposizione osteoblastica, verso il rimodellamento e, quindi la lesione e demolizione ossea. Questo modello spiegherebbe quindi il perché nel MM si riscontrano le lesioni ossee più volte menzionate.

VARIANTI DI MIELOMA

1) **mieloma micromolecolare:** vi è produzione di sole catene leggere. Esse si possono ritrovare non solo nelle urine (proteinuria di Bence-Jones), ma anche nel siero, grazie al test "free-light chain".

2) **Mielomi non secernenti:** c'è anche in questi tipi di mielomi ampia sostituzione midollare, ma senza para-proteina. Molto spesso questo è un segno negativo, poiché è indice di particolare immaturità della cellula.

3) **Plasmacitoma solitario:** tessuto mielomatoso concentrato in un'unica sede ossea o extra-ossea, per esempio nelle prime vie aeree.

(*Il prof. riporta l'esempio di un suo paziente, a cui era stato diagnosticato un plasmacitoma endonasale, poi operato e radiotrattato. In seguito, tuttavia, il paziente ha sviluppato dolore e successivamente tumefazione ad una spalla, segno di infiltrazione acromiale e dei tessuti molli da parte del tumore*). Il plasmacitoma solitario ha generalmente una prognosi abbastanza buona, anche se con il tempo c'è una certa probabilità che si trasformi in un mieloma multiplo e che quindi passi da una forma localizzata ad una forma sistemica. Altrimenti, come nel caso del paziente di cui sopra, c'è la possibilità che il plasmacitoma solitario si ripresenti a distanza di tempo, in un'altra sede corporea.

domanda: si definisce solitario perché non ci sono alterazioni nel pattern proteico né le alterazioni tipiche del MM?

Risposta: puoi avere anche un picco monoclonale modesto, ma alla BOM (biopsia osteo-midollare) non trovi un aumento sostanziale delle plasmacellule. (*Il plasmacitoma è anatomicamente circoscritto e può presentarsi in sedi ossee ed extra ossee, ndr*)

4) **Leucemia plasmacellulare:** caratterizzata dalla presenza di plasmoblasti in circolo, è la forma peggiore di mieloma, dà una sopravvivenza di pochi mesi. Questa forma di leucemia può presentarsi come tale, oltre che essere un'evoluzione di un mieloma progressivo. Si presenta con un quadro iperacuto, spesso in soggetti più giovani di 65 anni. La prognosi è pessima.

INDICI DI UNA CATTIVA PROGNOSI

Ci sono molti indici di cattiva prognosi. **I più importanti sono quelli "del granchio":** anemia, ipercalcemia, lesioni ossee estese ed insufficienza renale. Ci sono poi molti altri fattori che possono contribuire a peggiorare la prognosi del paziente, che sono:

- l'età avanzata
- performance status scadente e/o presenza di comorbidità peggiorativa
- livello molto alto di proteine (fino a 70g/l)
- valori elevati di beta2-microglobulina*
- LDH elevata**
- ampia infiltrazione midollare
- immaturità della componente plasmacellulare (plasmablasti)
- citogenetica sfavorevole, coinvolgente i cromosomi 14, 17 e presenza di diploidia
- leucemia plasmacellulare
- alti livelli di IL-6

*La beta2-microglobulina è un marker di neoplasia: essa, infatti, è elevata anche nei linfomi.

**LDH (lattico deidrogenasi) elevato può essere indice di una grande massa tumorale oppure di una neoplasia con cinetica particolarmente accentuata.

TERAPIA

In presenza di sintomi e segni di danno d'organo, il medico ha l'obbligo di intervenire instaurando una terapia.

Si distinguono due categorie di pazienti:

- pazienti anziani o pazienti con comorbidità importante che non trovano indicazione al trapianto autologo di midollo osseo;
- pazienti più **giovani**, candidati ad essere sottoposti al **trapianto autologo**

La terapia del paziente anziano, in uso da decenni ormai, prevede l'associazione di **cortisone (Prednisone) con un'alchilante (Melphalan)**. Ultimamente si è aperta la possibilità di utilizzare dei farmaci non chemioterapici, ma immunomodulanti o agenti sul microambiente midollare, i quali, associati alla terapia standard, permettono di ottenere ottimi risultati.

Il soggetto giovane che non ha gravi morbidità può essere candidato al trapianto autologo (in genere questo è preferito a quello allogenico, che è gravato da un alto tasso di mortalità soprattutto in fase precoce. Teoricamente il trapianto allogenico permetterebbe risultati migliori rispetto a quello autologo, sia attraverso una terapia più intensiva sia grazie alla *graft versus myeloma*, cioè la reazione del trapianto contro la malattia. Purtroppo però, come già detto, esso è gravato da un'alta mortalità).

La terapia si basa su **alchilanti ad alte dosi**, che permettono di raccogliere cellule staminali dal sangue periferico, le quali vengono criopreservate. Tali cellule staminali vengono quindi reinfuse nel paziente.

Recentemente sono stati reintrodotti farmaci già noti:

La **Talidomide**: farmaco tristemente noto dagli anni '70, usato contro la nausea e l'irrequietezza. Nei paesi in cui tale farmaco non era stato sottoposto ad un vaglio prolungato -e tra questi paesi vi era la Germania, il paese in cui era stata sintetizzata- ha provocato un numero molto alto di casi di focomelia, ovvero di arti simili a quelli delle foche nei bambini nati da madri che avevano assunto il farmaco durante la gravidanza. Il farmaco venne ritirato dal commercio. In laboratorio, tuttavia, si scoprì che esso era particolarmente attivo sulle plasmacellule patologiche. Utilizzato quindi in soggetti con mieloma (e non in gravidanza data la sua teratogenicità), permette di ottenere ottimi risultati.

Altri due farmaci, un derivato della Talidomide, la **Lenalidomide** e un inibitore del proteasoma, **Bortezomib** che in associazione agli steroidi, all'alchilante e associati tra loro, danno un effetto sinergico, con un'importante azione a livello midollare nell'inibire gli stimoli positivi alla crescita delle cellule neoplastiche.

Ci sono altri farmaci ad oggi in corso di studio, che potranno sicuramente migliorare il trattamento del mieloma, anche se probabilmente non riusciranno ancora a guarirlo.

Tra le principali cause di morte dei pazienti con mieloma ci sono le **infezioni a geni complessa**: a causa dell'aumento eccessivo della paraproteina, si ha in parallelo una riduzione delle immunoglobuline normali (deficit dell'immunità umorale), situazione questa che predispone il paziente a sviluppare infezioni soprattutto da germi capsulati e, in fase più avanzata, ci può essere una **leucopenia** importante, a causa dell'**invasione midollare** da parte delle plasmacellule e anche a causa delle **terapie mielotossiche**. Inoltre, anche le dosi elevate di steroidi cui sono sottoposti i pazienti con MM predispone alle infezioni. È importante per questo concentrarsi non solo sulla terapia che controlli la proliferazione neoplastica, ma anche calcolare le eventuali complicanze, per migliorare la qualità di vita dei pazienti e la loro sopravvivenza.

Nell'osteoporosi, la terapia con difosfonati si è rivelata efficace nel riparare il danno osseo, ridurre il dolore e la crescita neoplastica. Inoltre, nei centri specializzati viene utilizzata anche la vertebroplastica, che consiste nell'immettere nel corpo vertebrale lesionato una specie di resina, chiamata cemento, che rinforza, riscalda il corpo vertebrale, riduce il dolore ed evita il rischio di fratture che potrebbero ledere il midollo spinale. Anche l'ipercalcemia e l'anemia vanno trattate. Per l'anemia si può utilizzare l'eritropoietina, oppure trasfusioni di globuli rossi concentrati. Si devono prevenire e curare le infezioni. L'insufficienza renale deve essere seguita attentamente, nei casi più gravi con dialisi, che riducono ulteriormente la qualità di vita del paziente. La sindrome da iperviscosità va trattata con plasmaferesi per ridurre la quota di paraproteina. I sintomi neurologici dovuti alla compressione midollare sono da imputare a crolli vertebrali, ma anche a masse neoplastiche paravertebrali. Questo può provocare paraplegia nei casi più gravi: il neurochirurgo in questo caso deve intervenire con interventi di decompressione, oppure radioterapie, oppure alte dosi di steroidi e chemioterapici.

Domanda: dalla diagnosi di mieloma conclamato, qual è la sopravvivenza media del paziente?

Risposta: fino a qualche anno fa era di tre-quattro anni, oggi la sopravvivenza è sicuramente aumentata, anche se non si può fare una stima precisa degli anni, dal momento che si sono cominciati ad usare i nuovi farmaci da non molto tempo. Comunque la sopravvivenza media sembra essere intorno ai sei anni.

Recentemente si è cominciato ad usare la **radioterapia** anche per il trattamento delle fratture vertebrali, con diminuzione del dolore, in collaborazione con il neuroradiologo e con il radioterapista.

PROGNOSI

Il decorso della malattia è piuttosto imprevedibile: si va da pazienti con prognosi di pochi mesi, a pazienti che dopo vent'anni di malattia sono ancora vivi. Il dato medio è di sei anni di sopravvivenza.

I fattori negativi di prognosi sono quelli sopra menzionati: stadio avanzato, presenza dei sintomi del "granchio", tipo di proliferazione, entità della massa tumorale e caratteristiche del paziente.

Domanda sui fattori predisponenti allo sviluppo del mieloma(non si sente bene, ndr)

Risposta: il mieloma riproduce quella che è la quantità delle Ig normali (poco chiaro: nel MM la quantità di Ig prodotte è maggiore che in un soggetto normale! ndr): infatti le IgG sono le più comuni, poi ci sono le IgA e, a scalare, le IgM, IgE, ecc... (cioè la maggioranza dei mielomi produce come componente monoclonale le IgG, una quota minore IgA e così via...ndr).

Un dato importante è che la stimolazione cronica potrebbe favorire la comparsa della componente monoclonale. Non c'è una causa ben precisa in realtà, ma ci sono dei fattori di rischio, come le radiazioni ionizzanti, alcuni prodotti di lavorazione del petrolio e della gomma, erbicidi e pesticidi. In alcuni casi c'è una tendenza allo sviluppo della malattia in una stessa famiglia. Di certo si riscontrano anomalie citogenetiche: con la FISH si è rivelato che almeno il 30% dei mielomi si sviluppano su anomalie citogenetiche.

VITA DI THOMAS HODGKIN

Thomas Hodgkin era un quacchero di una setta protestante caratterizzata da una notevole rigidità e senso del dovere. Egli lavorava in un ospedale di Londra come volontario eseguendo moltissime autopsie. Si accorse che alcuni giovani morivano avendo un quadro di adenopatie e localizzazioni spleniche simili a quelle riscontrate nei pazienti con tubercolosi. Tuttavia, diversamente dalla tbc, in questi pazienti non erano presenti segni di necrosi caseosa tipica della malattia. Raccolse e pubblicò questi suoi ritrovamenti scrivendo le "parvenze patologiche delle ghiandole assorbenti e della milza" (1832), che presentò alla Società Reale

inglese di Medicina, la quale peraltro non gli prestò attenzione. Deriso dalla Società Reale, decise di andarsene dall'Inghilterra, lavorando come medico in altri Paesi.

Questa non fu l'unica delusione di Hodgkin: da giovane infatti si era recato in Francia, in cui conobbe Laennec (il cui nome viene tutt'oggi associato alla cirrosi-detta anche morbo di Laennec, appunto- e famoso per aver ideato il primo prototipo di stetoscopio, fatto di legno e molto rudimentale). Tornato in Inghilterra, Hodgkin aveva presentato alla Società Reale di Medicina lo stetoscopio, ma anche in quella occasione venne deriso e preso in giro.

In un'altra occasione, Hodgkin, aspirando ad un ruolo di rilievo presso il suo ospedale, non poté essere assunto poiché era entrato in rotta di collisione con il capo dell'ospedale, nonché azionista della Hudson Bay Company, compagnia che si arricchiva scambiando con gli Indiani d'America alcol ed armi in cambio di pellicce. Hodgkin, che aveva un alto senso della giustizia, contrastò questo traffico oltreoceano di alcol ed armi e quindi non venne preso in considerazione al momento dell'assunzione nell'ospedale.

Nella sua vita viaggiò moltissimo, occupandosi e curando anche le persone più disagiate. Morì in Palestina, dopo aver contratto una forma di colera particolarmente grave.

Le sue scoperte rimasero all'oscuro per circa vent'anni, quando un altro medico dello stesso ospedale in cui aveva lavorato Hodgkin, ritrovando lo stesso quadro "misterioso" in pazienti morti per cause sconosciute, si recò nella biblioteca, dove ritrovò la pubblicazione di Hodgkin e le diede rilevanza, rendendo onore alla scoperta fatta vent'anni prima. Da qui, il linfoma ha preso il nome del suo vero primo scopritore.

Lezione di Ematologia del 28/11/2013 (1)

LEZIONE DI EMATOLOGIA 28/11/2013

Professore: prof. Todeschini

Sbobbatore: Irene Gavioli

Revisore: Michele Tosi

Nella scorsa lezione sono state trattate le gammopatie monoclonali e il mieloma, facendo una distinzione chiara fra gammopatie monoclonali e la patologia mielomatosa, distinguendo fra mieloma asintomatico e sintomatico, che richiede una terapia senza indugio.

Nella precedente lezione erano anche state trattate le varianti del mieloma più comuni:

- micromolecolare: che secerne solo catene leggere
- mieloma non secernente: che non secerne componente monoclonale
- leucemia plasmacellulare: evenienza estremamente grave, con una sopravvivenza di pochi mesi
- plasmocitoma solitario

Il professore mostra una foto di un paziente di 77 anni con un plasmocitoma solitario.

Il paziente lamentava dolore alla spalla che inizialmente viene interpretato come dolore articolare, poi sviluppa una tumefazione dolente che si ingrandisce rapidamente fino a 8 cm. Viene quindi eseguita una biopsia che conferma plasmocitoma solitario. Lo stesso paziente aveva avuto dieci anni fa un plasmocitoma solitario della cavità nasale, guarito in seguito a terapia.

La tumefazione ora sviluppatasi è molto grande e coinvolge sia l'acromion che i tessuti molli. In seguito a stadiazione, poiché il tumore è localizzato il paziente si sottoporrà a radioterapia.

C'è comunque una possibilità che il plasmocitoma solitario possa evolvere a mieloma multiplo.

LINFOMA DI HODGKIN

Nella scorsa lezione si era parlato della vita di Thomas Hodgkin.

Thomas Hodgkin pubblicò nel 1832 alla Società Medica Reale di Londra il suo primo lavoro: "L'apparenza patologica delle ghiandole assorbenti (così allora chiamavano i linfonodi) e della milza". Il professore mostra un'illustrazione tratta dalla pubblicazione, in cui viene raffigurato un giovane paziente, che presenta una marcata linfadenopatia. Questo lavoro non venne apprezzato al tempo. Solo molti anni dopo il dottor Wilks (che lavorava nello stesso ospedale) dopo aver visto casi analoghi di giovani che morivano con linfadenopatie importanti e con splenomegalia aveva effettuato una ricerca in biblioteca trovando il lavoro Hodgkin e quindi riportandolo alla luce. Allora venne definito *morbo* di Hodgkin, perché non si sapeva fosse una neoplasia. Solo più tardi si capì che si trattava di un linfoma.

Il linfoma di Hodgkin:

- il primo linfoma descritto (1832, *Thomas Hodgkin*)

- caratterizzato sul piano istopatologico dall'presenza di cellule giganti che vennero dimostrate con microscopia a fine '800 da Sternberg (al tempo di Hodgkin non esisteva il microscopio). In seguito vennero meglio descritte da Dorothy Reed (che lavorava alla Johns Hopkins di Baltimora). Tali cellule vennero quindi chiamate, in suo omaggio, cellule di Reed-Sternberg
- linfoma della linea B (esistono sia linfomi B che T)
- classificazione attuale (WHO):
 - > classico (quattro entità) 95%
 - > prevalenza linfocitaria nodulare (NLPHL), molto più raro
- è importante perché è stato il primo modello di tumore potenzialmente curabile (anche se non guariscono tutti i pazienti)
- colpisce prevalentemente i giovani
- 1% neoplasie
- incidenza 4-4,5/100.000 → a Verona dove ci sono 300.000 abitanti ogni anno ci sono 12 casi, nella provincia di Verona gli abitanti sono 800.000 e quindi ogni anno in totale i casi sono 35.
- incidenza caratterizzata da un picco bimodale: il primo picco colpisce pazienti di 15-30 anni, il secondo picco è attorno 55-60 anni (variante dell'anziano, si presenta in modo diverso)

Eziologia

- ignota
- ruolo ipotizzato dell'infezione da EBV
- stati di immunodeficienza (i pazienti con infezioni da HIV possono sviluppare linfomi di Hodgkin, anche se sono più frequenti altri tumori)

Fattori di rischio

- hanno stato socioeconomico buono
- pochi fratelli o figli unici
- pregressa infezione EBV (dimostrazione molecolare che nel 30-50% i pazienti abbiano positività per EBV)
- aggregazioni familiari
- clusters di malattia familiari e ambientali (vicini di casa) per cui si può ipotizzare un ruolo virale

Diagnosi

- è istologica, deve essere fatta la biopsia con prelievo linfonodale completo. Il linfonodo deve essere *significativo*, cioè se c'è una linfoadenopatia di 2-3 cm di diametro il chirurgo deve prelevare quella e non una più piccola, e va prelevato intero senza essere frantumato.
- bisogna evitare di fare l'agoaspirato perché non arriva quasi mai a diagnosi e fa perdere tempo (15 giorni per la refertazione). [NdR: Il professore rimarca più volte questo punto, anche perché la biopsia consente di eseguire indagini immunoistochimiche e molecolari. Questo vale per tutti i tipi di linfomi].

Istologia

A differenza di altri tumori le masse neoplastiche che si possono vedere hanno solo una piccola minoranza (1-2%) di cellule patologiche ovvero le cellule di Reed-Sternberg (plurinucleate) e le cellule di Hodgkin (che hanno un solo nucleo, ma sono molto più grandi). Infatti tutto attorno sono circondate da un infiltrato infiammatorio reattivo costituito di eosinofili, neutrofilo, linfociti, plasmacellule e da un grado variabile ci può essere anche fibrosi. Se questa è molto pronunciata si definisce varietà istologica scleronodulare, che è la forma più frequente nei giovani.

Classificazione WHO

1. classico (fortemente maggioritaria), 95%
 - sclerosi nodulare, 70% (entità più frequente nel giovane)
 - cellularità mista, 20% (entità più frequente nell'anziano)
 - ricco di linfociti, 5%
 - povero di linfociti, 5%
1. prevalenza linfocitaria nodulare, rara (con diverso andamento anche clinico)

Il professore mostra l'immagine di una cellula di Reed-Sternberg:

- ben distinguibili
- enorme rispetto ai linfociti che la circondano
- grande, binucleata con nucleoli e molto citoplasma

Viene quindi mostrata un'altra cellula di Reed-Sternberg, questa definita "a occhio di civetta".

Esempio di preparati istologici:

- varietà scleronodulare: strutture nodulari (chiare) circondate da grosse bande fibrotiche (da qui “sclero”)
- cellularità mista: si vede meno la presenza di bande fibrotiche, è presente una commistione di eosinofili, neutrofili, linfociti e rare cellule di Reed-Sternberg
- prevalenza linfocitaria nodulare (più rara): presenza di cellule “a pop corn”, sempre grandi ma più piccole delle cellule di Reed Sternberg

Varietà a prevalenza linfocitaria nodulare

- 5%
- decorso meno aggressivo (in questo differisce dalle altre varietà)
- tende a ricadere dopo le cure
- può andare incontro a trasformazione in linfoma non Hodgkin più aggressivo
- non è chiaro quale sia il trattamento più efficace

Quadro clinico del linfoma di Hodgkin

- il paziente è in genere un giovane adulto, 15-30 anni
- sintomi sistemici (presenti in un terzo dei pazienti; si ritrovano anche nei linfomi NH):

- febbre
- sudorazioni notturne profuse (possono costringere il paziente ad alzarsi e cambiarsi perché fradicio di sudore)
- calo ponderale significativo negli ultimi mesi (oltre al 10% del peso corporeo) non spiegabile ad esempio con una dieta molto severa
- prurito (a volte è un disturbo che viene a lungo tempo misconosciuto o attribuito ad altre cause, può portare a situazioni veramente gravi, le persone potrebbero persino ferirsi grattandosi)

- tosse leggera insistente e non produttiva che non si spiega con focolai polmonari e che si accentua col decubito supino per aumento della compressione (presente nel 60% dei pazienti che hanno adenopatia mediastinica per compressione mediastinica sui bronchi). Questo è tipico nei giovani dove caratteristicamente le adenopatie sono sovradiaframmatiche (linfonodi: laterocervicali, sovraclaveari, ascellari, mediastinici), mentre negli anziani è frequente anche l'interessamento sottodiaframmatico.

- splenomegalia (la milza deve essere sempre esplorata)

- dolore che può comparire dopo assunzione di alcool (raro, ma abbastanza caratteristico), tale dolore non ha eziologia nota (una paziente vista dal professore riferiva dolore alla spalla dopo assunzione di birra, con l'esecuzione di una rx della spalla fu possibile vedere che, mentre la spalla era indenne, era presente una tumefazione al bordo della lastra, identificata come massa mediastinica grazie ad rx torace)

(altra paziente vista dal professore la settimana scorsa che riferiva prurito alle gambe e ai piedi, scatenato sempre dall'assunzione della birra. Quindi un prurito non spiegabile con patologie dermatologiche è un sintomo di allarme)

Viene mostrata l'immagine di una milza (*da autopsia, immagino. NdR*) di un LH avanzato, con ampia sostituzione (*neoplastica, NdR*).

Apparenza dei linfonodi

- prevalentemente sovradiaframmatici: laterocervicali, bassi nei 2/3 dei casi (alla base del collo), sovraclaveari, mediastici, ascellari
- non dolenti
- consistenza definita dagli Americani come “rubbery” (gommosa, non durissima come in una metastasi da tumore solido, non soffice come in una linfoadenite infettiva, buona ma non durissima)
- diffusione ordinata per stazioni linfonodali contigue (non si verifica nei non Hodgkin), ad esempio prima linfonodo laterocervicali poi sovraclaveari quindi ascellari (viene interessata l'intera catena)
- non è detto che ci sia interessamento simmetrico
- l'anello di Waldeyer non è generalmente interessato (nei LNH è più spesso colpito)

Stadiazione

Il linfonodo patologico viene quindi individuato, tolto dal chirurgo esperto (perché il linfonodo deve essere tolto integro) e quindi analizzato dall'anatomopatologo, quindi è possibile avere diagnosi su base istologica.

Fatta la diagnosi in ambulatorio ematologico avviene dunque la stadiazione.

La **stadiazione** è un insieme di accertamenti di laboratorio e strumentali volti a definire con più precisione possibile la reale diffusione della malattia.

Ad esempio è possibile, dopo riscontro e biopsia di un linfonodo superficiale, fare esami come un TAC addome e trovare un altro gruppo di linfonodi interessati.

È importante capire la diffusione perché la stadiazione dà indicazioni per la terapia, per la prognosi e per valutare l'efficacia della terapia.

Non è facile definire la prognosi ma è una delle prime domande che vengono fatte dal paziente o dai suoi parenti. Comunque un linfoma in primo stadio che interessa una sola sede linfonodale ha una migliore prognosi di un linfonodo diffuso in più sedi linfonodali e che interessa il midollo osseo.

La stadiazione deve essere accurata (esistono procedure da seguire), completa e rapida (non deve passare troppo tempo da quando si ha una diagnosi di linfoma alla conclusione dello stadio per iniziare una terapia, perché altrimenti è tutto tempo perso che va a detrimento del paziente!).

In cosa consiste la stadiazione:

- Rx torace antero-posteriore e latero-laterale per esplorare il mediastino
- TAC torace e addome con mezzo di contrasto per valutare se ci sono linfonodi interessati in altre sedi
- biopsia ossea che raramente è positiva
- esami di laboratorio: VES, β -2 microglobulina, LDH, emocromo con formula, proteine totali e frazionate, funzione epatica e renale, sierologia per HAV, HBV, HIV, eccetera
- PET-TAC (usata anche nel prosieguo della terapia), una sorta di tomografia-scintigrafia che si basa su iniezione in vena di uno zucchero marcato (*fluorodesossiglucosio*) che si accumula caratteristicamente nel tessuto patologico (dà un aspetto morfologico, fornito dalla TAC, e anche funzionale: se c'è una forte captazione dà un'idea della cinetica veloce e aggressiva del tumore).

Questi accertamenti vanno fatti *prima*, *durante* (una terapia può durare 5-6 mesi, dopo un paio di mesi o due o tre cicli è bene fare una nuova valutazione per valutare l'efficacia del trattamento, per vedere se continuare o cambiare l'approccio) e *alla fine* della terapia (per valutare i risultati).

Vengono mostrate delle immagini di PET-TAC in paziente con linfoma di Hodgkin avanzato, allo stadio terzo.

Prima del trattamento:

- quadro cerebrale: non va considerato perché il cervello capta una grande quantità di glucosio
- anche la vescica ed il cuore sono captanti (normale)
- captazione in adenopatie sopra e sovradiaframmatica

Dopo due cicli di trattamento (un mese e mezzo, ogni ciclo dura 28 giorni):

- non sono più presenti le linfadenopatie rilevanti.

La PET-TAC è stata introdotta come criterio per decidere se continuare o meno con la stessa terapia e come indice prognostico.

Il professore disegna alla lavagna il busto di un soggetto (delimitando il diaframma) e localizza i linfonodi per illustrare la **stadiazione di Ann Arbor** (località negli USA dove si riunirono esperti proprio per definirla):

- STADIO I: unica localizzazione (sopra o sottodiaframmatica)
- STADIO II: due o tre localizzazioni dallo stesso lato del diaframma
- STADIO III: localizzazioni sopra e sottodiaframmatica
- STADIO IV: localizzazione d'organo (es. fegato, rene)

Gli stadi poi si distinguono in (NdR: queste lettere si aggiungono al numero dello stadio)

- A: assenza di sintomi sistemici
- B: presenza di sintomi sistemici
- a: assenza di alterazioni di laboratorio
- b: presenza di alterazioni di laboratorio
- X: "bulky" se massa > 10 cm (oggi diversi gruppi considerano come valore > 7 cm) o > 1/3 diametro toracico (misurabile con rx torace); è un reperto sfavorevole.
- E: localizzazione extranodale (midollo, fegato...)

Il professore mostra nuovamente le immagini di PET-TAC e insiste sull'importanza di questo strumento diagnostico per valutare l'andamento della terapia.

Terapia (indipendentemente dallo stadio l'80% dei pazienti guarisce)

1) MOPP, la prima

2) ABVD, dall'acronimo dei quattro farmaci che compongono la combinazione Adriamicina, Bleomicina, Vinblastina, Dacarbazina (è un contributo italiano disegnato da Bonadonna all'Istituto dei Tumori dieci anni fa); è lo schema più usato in tutto il mondo.

Sapere la stadiazione risparmia terapia ai pazienti:

- stadio iniziale: 2-3 cicli
 - stadio avanzato: almeno 6 cicli
- 3) BEACOPP, terapia più recente e molto più pesante, introdotta dai tedeschi
- 4) radioterapia adiuvante nelle sedi colpite, dopo la chemioterapia

I pazienti sopravvivono nell'80% dei casi tanto che le cause di morte di questi pazienti non sono dovute a ripresentazioni della malattia, ma sono spesso dovute a patologie secondarie alla terapia stessa: danni cardiaci, raramente seconde neoplasie. È importante usare la terapia che serve ma niente di più.

Il problema è quando i pazienti sono non responsivi o hanno ricadute

- pazienti non responsivi dall'inizio: è veramente un dramma, bisogna pensare a delle terapie intensive (trapianto autologo di staminale ovvero autotrapianto, raramente trapianto allogenico); una quota consistente di soggetti difficilmente vengono recuperati
- terapie in fase sperimentale con farmaci biologici (Ab monoclonali)

- grazie alle terapie intensive il 40-60% dei pazienti non responsivi o ricaduti guariscono.

Fattori prognostici sfavorevoli

- stadio avanzato
- sintomi sistemici
- età avanzata
- sesso maschile
- anemia marcata alla diagnosi

Complicanze tardive

- sterilità, menopausa precoce (con la MOPP, la prima polichemioterapia introdotta)
- tossicità cardiaca, polmonare da farmaci o da combinazione di farmaci e radioterapia
- secondi tumori: mammella, stomaco, tiroide, leucemie, (*melanomi, sarcomi - da slides NdR*)

Quindi è necessario un lungo follow-up (vita natural durante) e cercare di fare sì terapie efficaci ma nulla di più di quello che è necessario.

Domanda: Si può fare questa correlazione: più il tumore è aggressivo, meglio risponde a questo tipo di terapia?

Risposta: Questo è un discorso un po' approssimativo, che vale soprattutto per i linfomi non Hodgkin.

Domanda: Ma negli anziani è più frequente l'interessamento sottodiaframmatico...

Risposta: Negli anziani è più frequente la forma la cellularità mista, la forma più avanzata (stadio III) quindi interessamento sottodiaframmatico, interessamento addominale, sintomi sistemici.

Nei giovani è invece più frequente la variante scleronodulare.

Domanda: Possono essere presenti alterazioni dell'emocromo?

Risposta: Sì, il paziente che comincia ad avere la febbre, la tosse, va dal medico curante, fa un po' di esami. Le alterazioni di laboratorio possono essere: anemia lieve normocromica normocitica non legata a carenze, aumento α_2 globuline al profilo proteico, aumento VES, PCR e fibrinogeno, iposideremia falsa, non legata a carenza, tipica delle malattie flogistiche croniche, alterazioni della formula leucocitaria (12.000 GB ad esempio) leucocitosi neutrofila, eosinofilia, linfopenia (non c'è una leucemizzazione da cellule di Reed-Sternberg). La leucemizzazione può avvenire nel mieloma o in altri linfomi non Hodgkin, ma non negli Hodgkin.

L'anemia è un fattore prognostico negativo: forma più avanzata o meno favorevole.

Conclusioni

- primo linfoma descritto 1832 da Thomas Hodgkin
- neoplasia (prima si definiva morbo e non si sapeva fosse un tumore, ora si sa che è un linfoma)
- colpisce i giovani
- cellule di Reed Sternberg o di Hodgkin, molto grandi rispetto alle cellule dell'infiltrato flogistico ma minoritarie
- componente flogistica (cellule)
- fibrosi
- la forma classica costituisce il 95% dei linfomi di Hodgkin, le più frequenti forme sono (non è un discorso assoluto):
 - > cellularità mista nel paziente anziano
 - > scleronodulare nei giovani
- chemioterapia efficace nell'80% dei casi (è efficace ma non guariscono tutti)
- problemi per: stadi avanzati, anziani (forma più grave, minore tolleranza della chemioterapia), non responsivi e ricaduti (soprattutto in questi casi il linfoma di Hodgkin ha prognosi infausta).

Domanda: Nella variante a prevalenza linfocitaria nodulare la cellula caratteristica si può chiamare cellula di Reed-Sternberg?

Risposta: Si possono trovare cellule di Reed-Sternberg, ma quelle caratteristiche sono le cellule di Hodgkin, anche chiamate cellule "a pop corn", sono meno marcatamente grande, non plurinucleate.

Esistono terapie innovative sia biologiche che chemioterapie che promettono per i prossimi anni. È importante ricordare che comunque con l'introduzione della chemioterapia si è ridotta notevolmente la mortalità, perché prima morivano quasi tutti.

I pazienti si possono presentare in ambulatorio anche con una tumefazione laterocervicale delle dimensioni di una prugna o di una noce.

È molto importante raccogliere l'anamnesi: momento di insorgenza dei sintomi, entità della tosse, delle sudorazioni, del prurito. È anche importante l'esame obiettivo, con visita dal capo ai piedi. Potrebbe essere riscontrata linfadenopatia inguinale in un paziente con tumefazione laterocervicale, potrebbero essere riscontrate lesioni extranodali.

In generale i linfomi si suddividono in:

- Linfomi di Hodgkin: più rari ma più comuni nei giovani (appena trattati)

- Linfomi non Hodgkin: molto più frequenti, prevalentemente negli anziani, ma si trovano anche nei giovani e nei bambini, l'età media è comunque sopra i 60 anni.

LINFOMI NON HODGKIN (LNH)

Molte delle osservazioni fatte sul LH (stadiazione, esami) valgono anche per i LNH.

Sono un problema parecchio diffuso e crescente. La loro incidenza sta aumentando con un ritmo abbastanza sostenuto.

I linfomi non Hodgkin sono molto più complessi.

Distinguiamo:

- linfomi B, molto più frequenti
- linfomi T, a prognosi peggiore, sono molto più difficili da curare, per fortuna sono una minoranza.

Dal punto di vista clinico distinguiamo in:

- linfomi a basso grado di malignità: indolenti (secondo il professore è una brutta traduzione dall'inglese)
- linfomi ad alto grado di malignità: aggressivi
- linfomi "very aggressive"

Si distinguono poi:

- linfomi nodali
- linfomi extranodali (non sono rari, corrispondono al 20-25% e sono più frequenti nell'anziano)

Linfomi non Hodgkin sono in aumento, circa 3-4% annuo.

In USA 60.000 nuovi casi di LNH nel 2005, 64.500 nel 2009.

Aumento dovuto a:

- sicuramente l'immunodeficienza da HIV favorisce l'insorgenza dei linfomi, ma questo aumento è indipendente dalla diffusione dell'HIV (*frase rielaborata, perché confusa, penso che il senso fosse questo, NdR*)
- è il quinto tumore negli Stati Uniti, dopo polmone, mammella, colon e prostata

[NdR: Il professore illustra una slide sull'incidenza dei linfomi]

Incidenza dell'Hodgkin è stabile (2,6-2,8 su 100.000, da slide NdR)

Incidenza LNH: 8,8 su 100.000/anno negli anni '70, ad oggi sono 25 su 100.000/anno.

L'eziologia non è conosciuta.

Fattori di rischio

- immunodeficienza congenita o acquisita (prolungate terapie immunosoppressive per malattie autoimmuni, trapianti d'organo solido e infezione da HIV)
- infezioni virali (EBV, HIV, HHV8, HTLV1 (Adult T-Cell Leukemia Virus tipico del Giappone e dell'estremo Oriente, HCV per linfomi generalmente a basso grado di malignità, NdR)
- infezioni batteriche (MALTomi, linfomi gastrici associati ad infezione da Helicobacter pylori, linfomi oculari da Chlamydia)
- soprattutto fattori ambientali come sostanze chimiche (benzene-derivati, erbicidi, pesticidi), fattori fisici (radiazioni ionizzanti).

Anamnesi (anche in questo caso è importante):

- fattori di immunosoppressione (positività ad HIV, HCV...)
- familiarità (che talora può osservarsi)
- sintomi sistemici o d'organo (dovuti a compressione od invasione) simili a quelli riscontrati nel linfoma di Hodgkin. È importante sapere l'esordio dei sintomi (un mese, due mesi...), la durata dei sintomi, la loro persistenza, la presenza di recenti infezioni.

Esame obiettivo (come per il linfoma di Hodgkin visita da capo a piedi):

- valutare linfoadenopatia superficiale
- valutare splenomegalia
- cercare segni di compressione da adenopatie profonde (la crescita della massa neoplastica può essere rapida specialmente nei linfomi aggressivi):
 - > compressione delle vie aeree in presenza di una massa mediastinica
 - > compressione delle vie biliari con comparsa di ittero
 - > compressione delle vie urinarie che provochi idroureteronefrosi
 - > compressione da linfonodi a livello iliaco-addominale: stasi venosa, edema degli arti inferiori, flebiti, linfedema.

Diagnosi

- biopsia di linfonodo o tessuto (es. biopsia della mucosa gastrica in corso di EGDS, gastrectomia se c'è una grossa massa) che poi deve essere inviata all'anatomopatologo perché possa effettuare esami citochimici, molecolari, etc.
- non agoaspirato (non è una diagnosi citologica)

Classificazione

I linfomi non Hodgkin si dividono in:

1. indolenti (basso grado)
2. aggressivi (alto grado)
3. molto aggressivi

Una delle variabili immunoistochimiche che mostra il grado di proliferazione del linfoma è il Mib1 o Ki-67, un antigene associato alla proliferazione cellulare. Nelle cellule che proliferano quindi il Ki-67 è **positivo**.

Il professore mostra quindi tre riquadri (*ovvero tre immagini di preparati istologici visti al microscopio, la colorazione immunoistochimica (positività per Ki-67) è marrone, NdR*):

Quindi questo è uno degli esami immunoistochimici che richiede il tessuto (dalla biopsia, NdR) e che aiuta a dare un'idea della cinetica proliferativa di questa neoplasia.

Stadiazione

Come per l'Hodgkin servono degli esami e lo scopo è quello di definire l'estensione della malattia, per dare un'idea precisa della stadiazione, per valutare la prognosi e la terapia.

Come visto prima l'indice di proliferazione serve per definire lo stadio. Nel linfoma aggressivo adatterò una terapia aggressiva, ravvicinata ed intensiva. In un linfoma indolente, se non ci fosse la necessità, si potrebbe anche decidere di non adottare una terapia.

Gli esami sono gli stessi usati per il linfoma di Hodgkin. Poi possono esserci esami particolari, come gastroscopia (nel dubbio di un linfoma gastrico), ecoendoscopia, colonoscopia (nel dubbio di un linfoma che coinvolga il colon), risonanza magnetica (nel dubbio di linfomi paravertebrali, cerebrali, oculari), rachicentesi esplorativa per valutare la presenza di cellule neoplastiche nel liquor. Queste sono comunque cose particolari, è importante ricordare i primi tre punti (*NdR: quali? Presumo gli esami fondamentali descritti anche per il linfoma di Hodgkin, di laboratorio e strumentali*).

Scopi della stadiazione:

- orientamento prognostico (è spesso una delle prime domande rivolte dal paziente, non è possibile essere assolutamente precisi ma si ha comunque un buon orientamento sul suo andamento. [*NdR: Il professore sottolinea la necessità di essere delicati ma sinceri, senza "tagliare le gambe" o illudere il paziente*])

- indirizzo terapeutico

- valutazione della risposta terapeutica (è importante sapere se il paziente ha avuto scomparsa della malattia, non rilevabile più con nessun mezzo strumentale, e in questo caso si parla di remissione completa, in questo caso bisogna verificare che la remissione si mantenga e che non ci sia una ricaduta della malattia, che è sempre possibile. Quindi il paziente va sempre seguito, magari con intervalli progressivamente più lunghi.)

Il professore mostra un confronto di immagini PET-TAC di un linfoma aggressivo alla diagnosi:

- linfonodi sovradiaframmatici interessati

- grossissima massa neoplastica che occupa quasi metà addome, dal diaframma al pube, il fegato è indenne.

Dopo tre cicli di terapia si vede dalla PET-TAC una risposta drammatica, la massa non è più visibile ma questo non significa che la malattia è stata eliminata e che si può terminare la terapia. Questa è l'indicazione che la terapia è efficace e deve essere proseguita.

LINFOMI INDOLENTI

A basso grado di malignità, sono linfomi che crescono lentamente e si diffondono abbastanza lentamente ma si diffondono. In genere non danno sintomatologia, il paziente non sta male in genere ma può avere linfadenopatie.

Sono frequenti, negli Stati Uniti e nell'Europa Occidentale (dove ci sono statistiche più accurate) costituiscono il 40% di tutti linfomi; sono la seconda variante più frequente dopo la DLCL (linfoma diffuso a grandi cellule).

Tra questi il linfoma follicolare è il più comune.

Altri sono il linfoma della zona marginale, il linfoma a piccoli linfociti, i linfomi del tessuto linfatico associati alla mucosa, i linfomi marginali nodali, i linfoplasmocitoidi.

[*NdR: Il professore dichiara che non è tanto importante sapere tutti i tipi di linfoma indolente, l'importante è avere il concetto di cosa sono i linfomi indolenti.*]

Terapia

Non è nemmeno necessario partire subito con la terapia. La terapia precoce non aumenta la sopravvivenza, anche se ci sono delle eccezioni. Generalmente non è un'urgenza, a differenza dei linfomi aggressivi.

Indicazione alla terapia:

- sintomatico
- grossa massa (*bulky*)
- alto rischio
- fenomeni compressivi (ad esempio sulle vie urinarie o biliari)
- esteso interessamento midollare che causi insufficienza midollare (anemia, pancitopenia, trombocitopenia)

Se non sono presenti queste caratteristiche si può rivedere il paziente dopo due o tre mesi.

Curva di sopravvivenza (prima dell'introduzione degli anticorpi monoclonali anti-CD20, il più noto è il Rituximab):

- ordinata: la percentuale di sopravvivenza, il massimo valore è 100%
- ascissa: il tempo

Al passare del tempo si ha una riduzione della sopravvivenza: a 30 anni la sopravvivenza è del 20%.

C'è una continua tendenza a progredire verso la mortalità.

Il linfoma indolente cresce piano ma è molto improbabile (quasi impossibile) riuscire a guarire, a meno che sia molto localizzato. Se la crescita è lenta spesso non v'è bisogno di aggredirli con la terapia però c'è poca possibilità di guarire definitivamente questi soggetti.

La sopravvivenza è lunga ed è stata aumentata dalle nuove terapie. Il paziente può convivere a lungo con la malattia. Tale paziente alla diagnosi ha generalmente 60 anni e la sopravvivenza mediana prima delle nuove terapie era 8 anni. Alla fine i soggetti muoiono di questo.

Linfoma follicolare indolente

- sono i più comuni

Prognosi

5 parametri semplici che costituiscono un indice prognostico (è importante la stadiazione anche in questo caso), fattori sfavorevoli:

- età > 60
- anemia (<12g/dl)
- stadio avanzato
- elevata LDH (indice di proliferazione tumorale)
- interessamento di più di 4 stazioni linfonodali (è diverso se ho una, due stazioni interessate o 5 o 6)

Ognuna di queste voci vale un punto, sommando il totale:

- 0-1: basso rischio (sopravvivenza a 10 anni: 71%)
- 2: intermedio (sopravvivenza a 10 anni: 51%)
- 3-5: alto (sopravvivenza a 10 anni: 36%)

I dati relativi alla sopravvivenza a 10 anni sono comunque stati valutati in era pre anticorpo anti-CD20.

Negli ultimi anni è stato introdotto questo anticorpo monoclonale anti-CD20 che colpisce le cellule CD20 positive (*i linfociti B, NdR*). Le cose sono quindi un po' cambiate, anche se non in modo risolutivo, la sopravvivenza a 4 anni però passa dal 69% al 91%. La sopravvivenza mediana (ovvero metà della popolazione è morta, ma metà è ancora viva) da 7-8 anni passa 94 mesi, che vuol dire 9 anni o poco meno.

Accenno di terapia:

- ampio range di terapia
- da non fare niente, "watch and wait" secondo gli americani, ad una terapia più aggressiva, fino al massimo della terapia che è il trapianto di midollo allogenico
- se il linfoma è localizzato (evenienza rara perché queste forme indolenti follicolari si presentano in fase avanzata ed hanno interessamento midollare) si può effettuare anche radioterapia, questa è praticamente l'unica situazione in cui si può ottenere la guarigione
- ci sono notevoli miglioramenti grazie all'introduzione di anticorpi monoclonali associati alla terapia (non sappiamo se la curva di miglioramento raggiungerà un plateau, i dati ad oggi raccolgono 10 anni di osservazione).
- ci sono nuovi anticorpi monoclonali e nuovi farmaci, ci sono quindi speranze.

Domanda: Il Rituximab viene usato anche per i linfomi T?

Risposta: Il Rituximab viene usato solo per i linfomi B, il CD20 viene espresso solo dai linfociti B.

Nei linfomi T si possono usare anticorpi monoclonali che colpiscono sia i B che i T, ma sono fortemente tossici, con pesanti effetti collaterali, tali chiedersi se valga veramente la pena usarli.

Sono usciti recentissimi nuovi farmaci per i linfomi T particolarmente efficaci che sono ancora in fase di sperimentazione. I linfomi T hanno una prognosi peggiore però perché sono aggressivi di per sé, in più poi non abbiamo una terapia.

D: I linfomi T rientrano nella classificazione indolenti, aggressivi?

R: Sì ma sono quasi tutti aggressivi.

Il professore mostra la classificazione della WHO, che divide i linfomi in B e T (che sono il 20-30%, ma dipende molto dalla zona geografica, in estremo Oriente sono più frequenti i linfomi T).

Classificazione della WHO

Linfomi B:

- precursori: linfoma / leucemia linfoblastica B (uno solo, il linfoblastico)

- maturi

Linfomi T

- precursori: linfoma / leucemia linfoblastica T

- maturi:

D: I linfomi MALT a livello gastrica associati a H. Pilory vengono trattati con la terapia di eradicazione del batterio ma questo ha effetto risolutivo? In che percentuale?

R: Può esserci risoluzione in una buona percentuale. Nella mucosa gastrica non dovrebbe esserci tessuto linfoide, ma la presenza dell'Helicobacter determina una stimolazione antigenica e quindi reclutamento linfocitario che si possono trasformare e dare origine ad un linfoma che può essere in gran parte dei casi poco aggressivo, a volte anche aggressivo. Si è visto che l'eradicazione dell'Helicobacter può portare a guarigione sia la maggioranza dei linfomi a basso grado e adesso ci sono esperienze recenti che suggeriscono di tentare una terapia eradicante anche nei linfomi ad alto grado. Il professore è scettico riguardo a questa scelta, sarebbe invece orientato verso la chemioterapia o la radioterapia.

Lezione di Ematologia del 5/12/2013 (1)

Lezione di Ematologia del 5/12/2013

Sbobinatore: Viviana Framba

Revisore: Luca Sgarabotto

(La lezione è stata svolta dal prof. Todeschini che ha trattato per la prima ora i Linfomi NH, l'ultima parte è stata svolta dal prof. Ambrosetti che ha trattato le patologie che riguardano il sistema coagulativo)

Prima parte

I linfomi aggressivi:

- sono un po più del 50% dei linfomi NH
- crescita rapida(che in alcuni casi può essere rapidissima)
- presenza di sintomi sistemici(presenti nel 30% dei casi)gi' citati nell-hodgkin
- meno spesso hanno interessamento del midollo rispetto agli indolenti
- non regrediscono anzi tendono ad aumentare nella loro progressione
- senza trattamento in tempi brevi la malattia ha un esito fatale a breve

L'ematologo deve dunque iniziare la terapia senza indugio, ma solo dopo avere completato la stadiazione per capire quanto è diffuso il linfoma. L'atteggiamento di fronte ai linfomi aggressivi è dunque diverso da quello che si usa quando si è davanti a linfomi indolenti. Il trattamento è importante perché si riesce a ottenere un 50% delle guarigioni che però si differenziano da un istotipo all'altro, da come si presenta il linfoma e dalla terapia che si fa. Ci sono linfomi che hanno percentuale di guarigione minori altri che hanno probabilità di guarire fino al 80-90%.

I linfomi aggressivi sono un gruppo numeroso ed eterogeneo di malattie(cita la slide).

Questi hanno decorsi differenti, ma sono caratterizzati nell'insieme da un andamento piuttosto rapido. È importante dunque essere supportati da un gruppo di patologi esperti(come a Verona) che è dedicato a questa patologia poiché non è semplice incasellare i vari linfomi nelle categorie specifiche.

Ci sono dunque:

LINFOMI IMMATURI

- linfomi a precursori B(gruppo più numeroso)
- linfomi a precursori T

LINFOMI MATURI linea B

- DLBCL (diffuse large B cell linfoma)(è il più frequente)
- LINFOMA DIFFUSO RICCO DI LINFOCITI
- LINFOMA MANTELLARE
- LINFOMA MEDIASTINICO
- LINFOMI DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE
- LINFOMI CUTANEI
- LINFOMI AD ALTO GRADO NON ALTRIMENTI SPECIFICABILI
- LINFOMA DI BURKITT(trattato a lezione)

-ALTRI RARI

LINFOMI MATURI linea T ce ne sono più di dieci(sono molti non occorre sapere la classificazione, ma capirne la complessità)

l'andamento e la prognosi è peggiore rispetto a quelli B, sono più difficili da trattare e soprattutto da curare.

Dei vari tipi di linfoma c'è la possibilità di ottenere globalmente di 50% di guarigione. In questo gruppo si differenziano da istotipo a istotipo. ce ne sono alcuni a prognosi infausta e altri che hanno possibilità di guarigione del 80-90%. a lungo termine complessivamente il 50% è guaribile.

Linfomi indolenti vs linfomi aggressivi

I linfomi indolenti:

- crescita lenta
 - indolenti (nel senso che non danno problemi alla persona affetta)
 - biopsia ossea positiva
 - non hanno (se non raramente) sintomi sistemici
 - progrediscono lentamente
 - possono avere dei periodi di regressione. Ad esempio il paziente può avere linfadenopatie voluminose che possono nel tempo subire delle diminuzioni di volume scomparire.
 - la guarigione è pressochè impossibile
 - il trattamento non modifica di molto la sopravvivenza globale, ma la situazione è migliorata dopo l'introduzione del Rituximab(anticorpo monoclonale di cui ha parlato nella precedente lezione)
 - la sopravvivenza mediana è più lunga. Questo vuol dire che dopo 8-10 anni il50% dei soggetti è ancora vivo e l'altro 50% è morto. Dopo l'introduzione degli anticorpi monoclonali si è allungata di diversi anni.
- Quasi tutti i pazienti finiscono per morire di linfoma. Una quota non indifferente di linfomi indolenti nel decorso della malattia può subire un cambiamento istologico, la cosiddetta progressione istologica , diventando un linfoma aggressivo. Non tutti i linfomi indolenti di basso grado lo rimangono,ma possono cambiare.

LINFOMI AGGRESSIVI

Nei linfomi aggressivi (che hanno una crescita rapida, un decorso aggressivo e in cui c'è meno frequentemente l'interessamento del midollo spesso hanno sintomi sistemici, non regrediscono ma tendono ad aumentare il 50% sono guaribili ma ciò dipende da terapia e altri fattori) la terapia influenza molto la sopravvivenza. Se non si facesse la terapia i pazienti morirebbero di linfoma in tempi brevi. La terapia da buoni risultati e abbiamo un plateau di sopravvivenza che si prolunga nel tempo.

Domanda: quando un linfoma indolente progredisce ad aggressivo diventa curabile?

Risposta: no,per di più quando un linfoma indolente progredisce ad uno aggressivo di solito è peggiore di un linfoma aggressivo che nasce come tale. È possibile curarlo, ma con risultati peggiori rispetto ad un linfoma aggressivo che nasce come tale.

Nei linfomi aggressivi quando si è ottenuta una remissione completa più passa il tempo meglio è. Infatti più ci si allontana dalla terapia più è facile che il paziente venga curato. Il contrario vale per i linfomi indolenti.

I linfomi aggressivi sono un gruppo molto eterogeneo il più frequente è il Linfoma Diffuso a Grandi Cellule (DLBCL). È una malattia dell'anziano ,infatti più della metà dei pazienti ha più di 60 anni. Vedete che c'è una quota dei pazienti sotto i 35 anni, ma la maggior parte sono sopra i 60.

Si distinguono nei DLBCL 3 gruppi ,dal punto di vista molecolare e clinico:

- GBC(germinal b center)
- ABC(activated b cell, b a cellule attivate)
- LINFOMI MEDIASTINICI che è un gruppo un po' a sé

Sono diversi tra loro :

I GBC esprimono bcl-6, sono più giovani degli altri e vanno un po' meglio.

Gli ABC esprimono bcl-2 ,sono un po' più anziani e vanno peggio.

I LINFOMI B MEDIASTINICI sono un gruppo minoritario particolare,oggetto di studio approfondito di Borgo Roma. Hanno un decorso piuttosto favorevole.

Quando un linfoma si presenta e avete fatto diagnosi e stadiazione ci sono diversi fattori prognostici che aiutano a capire quale sarà il decorso di questo paziente:

- l'istologia(ABC vanno peggio)
- lo stato generale del paziente(performance status)
- la presenza o meno di sintomi sistemici
- lo stadio del linfoma (un linfoma avanzato ha decorso peggiore di uno in fase iniziale)
- indice di replicazione(male se è elevato)

- misurazione del LDH . Questo enzima viene utilizzato per dare indicazione dell'entità della massa e sulla rapidità della proliferazione.
- espressione del bcl-2 in particolare il gruppo double hit che oltre al bcl-2 esprimono anche c-myc
- i T vanno peggio dei B
- evoluzione ad alto grado di un linfoma indolente ha andamento peggiore
- età oltre i 60 anni
- interessamento extra-nodale
- interessamento di un certo numero di stazioni linfonodali

(non sono da ricordare tutti necessariamente)

Ci sono 5 sono i fattori prognostici che si usano nella pratica clinica:

- l'età superiore a 60 anni(sempre sfavorevole)
- lo stato generale del paziente(calcolato con il performance status)
- lo stadio avanzato di malattia
- l'LDH
- interessamento extranodale(di più di una stazione)

Dato un punto a ciascuno a questi indici si hanno le indicazioni per iniziare la terapia e si ha un'idea di come grossomodo potrà andare questo linfoma.

Si identificano usando questa scala 4 gruppi(studio fatto prima dell'introduzione del rituximab):

- basso rischio: che hanno 0 o 1 punto con sopravvivenza a 5 anni oltre 70%
- alto rischio: ne hanno 4 o 5 la sopravvivenza diminuisce molto. A 5 anni il 75% dei pazienti sono morti di linfoma.

Lo studio fatto nell'era pre-Rituximab ora darebbe risultati diversi, ma vengono mantenuti i rapporti tra i diversi gruppi. Questo indice si chiama IPI (international prognostic index) che da' un'idea di come andrà la malattia in termini di probabilità.

LINFOMI (PRIMITIVI) B MEDIASTINICI.

Sono il 7% dei linfomi aggressivi e il 3% di tutti i linfomi. Non sono pochi e sono interessanti perché colpiscono soprattutto i giovani.

C'era da tempo evidenza che fosse un linfoma diverso dagli altri perché colpiva i giovani e aveva una netta prevalenza femminile. Non presenta linfonodi superficiali, ma una grossa massa mediastinica. Con le terapie tradizionali andavano piuttosto male. Nel 1985 un gruppo canadese guidato da Joseph Connors aveva individuato un protocollo differente. Anzi che fare una terapia ogni tre settimane (come si usa fare) si faceva una terapia ogni settimana c'erano risultati migliori. Il soggetto che è spesso una donna giovane si presenta spesso con sintomi come una tosse insistente che aumenta con il decubito supino, c'è febbre, spesso si vede al decubito supino uno spiccato turgore giugulare(c'è una foto sulle slide) che è dovuto alla massa mediastinica che comprime i vasi venosi. Mostra un rx torace. Per tutto lo sfondato costo-frenico mantenutosi a dx e sx invece ce un importante versamento pleurico cosa che spesso accompagna questi linfomi.

Mostra una tac dove si vede un enorme massa che comprime i polmoni. All'interno della massa si vedono aree necrotiche dovute alla rapida proliferazione del linfoma che non è supportato da una vascolarizzazione sufficiente e dunque alcune zone possono andare in necrosi. Una situazione di questo genere si spiegano tutti i sintomi.

Questi pazienti rispondono bene alla terapia.

Mostra una PET nella quale si vede chiaramente la diminuzione della massa mediastinica e il riassorbimento del versamento pleurico a seguito della terapia.

Mostra un altro caso più avanzato con localizzazioni ossee al bacino e linfonodi addominali.

Tra i primi che l'hanno studiato sono stati i patologi e gli ematologi di Verona e con loro gli ematologi che nel 1990 hanno pubblicato sul Clinical Journal of Oncology uno studio a riguardo. Lo studio dimostrava che con lo schema terapeutico tradizionale CHOP non c'era nessuno dei pazienti che sopravviveva. Applicando invece la terapia MACOP-B del gruppo canadese c'erano 12 su 15 che guarivano dal linfoma. È stato un grande traguardo perché era tragico vedere che ragazze giovani di 15-18 anni morivano soffocate dal linfoma poiché non rispondevano alla terapia. Poi sono entrati nello studio altri centri italiani (circa 16) per fare uno studio su più casi 140 pazienti. Lo studio mostrava che a fronte di una sopravvivenza precedente all'introduzione della terapia MACOP-B del 30% si passava a una sopravvivenza circa del 80% con questa terapia di terza generazione. Anche grazie a questi studi oggi dunque il linfoma mediastinico è stato classificato come un tipo a sé dalla WHO. Oltre alla nuova terapia si fa anche una radioterapia sul residuo mediastinico e anche questo migliora la sopravvivenza.

Mostra una PET che mostra il linfoma che dopo un solo mese e mezzo di terapia è scomparso. Rimane solo l'accumulo di fluoro-desossiglucosio nel cervello nel cuore e nella vescica(normale). Questo indica che il soggetto sta rispondendo molto bene, ma la terapia deve proseguire. In più con l'aggiunta del Rituximab a questa terapia settimanale i risultati sono stati ancora migliori. In uno studio su 40 casi c'è stato solo una persona che è morta di linfoma gli altri sono tutti guariti.

LINFOMI ESTREMAMENTE AGGRESSIVI

-Linfoma di Burkitt

-Linfoma intermedio tra Burkitt e il diffuso a grandi cellule

-Linfomi T periferici(ostici da curare)

LINFOMA DI BURKITT

istologia :quadro a cielo stellato in cui il “cielo buio” sono cellule di medie dimensioni omogenee e poi ci sono le “stelle” che sono dei macrofagi all'interno del tessuto neoplastico.

Linfoma molto aggressivo, è il tumore umano che si replica più rapidamente.

-Il Ki-67 è all 100%

-riarrangiamento del c-myc

-quasi costantemente la traslocazione che coinvolge il cromosoma 8. la più frequente t(8;14) ma anche t(2;8) e t(8;22).

Ci sono 3varianti:

-variante africana endemica che ha rapporti con la malaria. Forma scoperta da Burkitt(descritta in Uganda negli anno '60).

-variante sporadica, presente in occidente.

-variante presente nei pazienti immunodepressi.

Foto: bambino africano con coinvolgimento dei linfonodi sotto-mandibolari a crescita molto rapia. Foto scattate dopo la terapia mostrano una diminuzione del volume sconvolgente e repentina dopo la terapia.

Quando non si usavano terapie particolarmente intensive c'era una sopravvivenza attorno al 13% dei casi. Nel 1988 sono stati utilizzati schemi molto più intensivi che richiedono ricovero e supporto con unità piastriniche, globuli rossi e antibiotici e i risultati sono molto migliorati. Lo studio è stato fatto su 70 casi (in tutto il Veneto). La curva di sopravvivenza è molto cambiata . Nei bambini è arrivata fino al 90% e del 80% circa negli adulti.

Poi ci sono altri linfomi (mostra varie foto)

-LINFOMA ANAPLASTICO A GRANDI CELLULE(mostra foto conglomerato linfonodale nella coscia e interessamento epatico). Non esprime ALK, crescita rapida.

Mostra Linfoma T anaplastico della mammella in donna giovane.

-LINFOMI EXTRANODALI(20-30%dei casi) stanno aumentando, sono spesso linfomi aggressivi. Alcuni sono pessimi ad esempio quelli che colpiscono il SNC. Mostra linfoma che cresce ne meato uditivo che migliora con la terapia. Linfoma che colpisce il sottocutaneo con multiple localizzazioni.

-LINFOMA CUTANEO T NON AGGRESSIVO

-LINFOMA A MILZA E PANCREAS risponde bene alla terapia

-LINFOMA GASTRICO. Di solito lo stomaco è una cavità virtuale in questo caso sembra che ci sia una specie di palloncino al posto dello stomaco

-LINFOMA DEI TESSUTI MOLLI(e della clavicola) in una donna giovane

-LINFOMA AGGRESSIVO DELL'ORBITA. Tac mostra massa che spinge avanti l'occhio creando forte asimmetria nelle coane.

-LINFOMA DELLE TONSILLE

-LINFOMA DEL RINOFARINGE richiede tracheostomia d'urgenza per ostruzione delle vie aeree.

-LINFOMA CONGIUNTIVALE a basso grado della zona marginale che può anche essere dato da infezione da Clamydia e può essere trattato e guarito da semplice terapia antibiotica.

-LINFOMA CEREBRALE PRIMITIVO sono i peggiori e hanno una curva di sopravvivenza con il 20% scarso di pazienti che sopravvivono.

Restano molti problemi aperti soprattutto per la terapia perché mentre per il Linfoma Diffuso a Grandi Cellule è chiara la terapia migliore (R-CHOP), per altri ad alto rischio o come per il Linfoma Mantellare non si sa che terapia è meglio fare per essere più efficaci; inoltre i risultati per i linfomi T periferici i risultati sono insoddisfacenti.

Ci sono molte ricerche in corso con nuovi farmaci immunomodulanti (derivati del talidomide ovvero il lenalidomide) e nuovi anticorpi monoclonali che possono forse portare a un miglioramento.

Ci sono problemi aperti, ma ci sono anche dei progressi in atto che sono meno manifesti nei linfomi indolenti, ma ci sono dopo l'introduzione dell'immunoterapia accoppiata alla chemioterapia.

L'esortazione che il professore da' è: studiate i linfomi (che sono il quinto tumore per frequenza e sono in aumento) perché nella vostra vita professionale, qualunque specialità farete, vi imatterete sicuramente nei linfomi!

Domanda e Risposta: la domanda è relativa alla classificazione del linfoma primitivo del mediastino all'interno dei linfomi diffusi a grandi cellule B. Risposta: i linfomi del mediastino sono dei linfomi diffusi a grandi cellule ma mentre fino a qualche anno fa venivano raggruppati assieme nel 2008 la WHO l'ha riconosciuto come un'entità diversa perchè colpisce prevalentemente giovani donne e se trattato adeguatamente ha una prognosi migliore degli altri. Anche se comunque resta un linfoma aggressivo a grandi cellule. Il patologo lo classifica come un linfoma primitivo del mediastino diffuso a grandi cellule e quindi trattato in modo differente e c'è la possibilità di comunicare al paziente la possibilità di una prognosi molto buona, mentre una volta non era così.

Domanda e Risposta: il linfoma cerebrale primitivo è più incidente in HIV positivi e anziani (età media superiore ai 60 anni) che hanno sopravvivenza bassa (15-20%) e bisogna ben valutare le sequele neurologiche causate da terapia.

Domanda e Risposta: Domanda che chiede delucidazioni riguardo alle differenze tra la terapia tradizionale CHOP e MACOP-B. Risposta: il prof. Dice che esula dai nostri compiti comunque:

CHOP (ciclofosfamide-hariblastina-Oncovin (vincristina derivato della vinca) e prednisone) viene fatta ogni 3 settimane CHOP 14 (ogni 2 settimane)

MACOP-B (terza generazione) terapia settimanale che accoppia una terapia fortemente mielosoppressiva con una meno mielosoppressiva. La terapia è settimanale per tenere il linfoma sempre sotto pressione. La terapia si conclude in 3 mesi. Non tutti sono d'accordo con questa terapia in Italia si usa questa perchè è considerato lo schema migliore. Gli americani hanno proposto una nuova terapia infusiva continua con rituximab che si chiama dose adjusted EPOC.

Seconda parte

MALATTIE DELL'EMOSTASI

L'emostasi è un complesso di processi che sono strutturati al fine di mantenere l'efficienza del circolo sanguigno. Da una parte devono cercare di impedire le perdite dai vasi in caso di lacerazioni e rotture al fine di evitare l'emorragia e dall'altra mantenere fluido il sangue. Queste azioni complesse sono portate avanti da una serie di componenti che sono chiamate didatticamente fasi dell'emostasi che sono:

- VASALE
- PIASTINICA
- EMOCOAGULATIVA

Si tende in genere a sovrapporre i termini emostasi e coagulazione. In realtà la coagulazione è solo una parte dell'emostasi. La funzionalità del circolo è mantenuta da un processo bilanciato tra la tendenza alla perdita, l'emorragia e la tendenza alla trombosi. Dunque questo sistema deve funzionare bilanciando le due tendenze.

VASI

una componente dell'emostasi è la reazione vasale. In caso di danno vascolare c'è una vasocostrizione mediata dal punto di vista neurologico e una liberazione della serotonina da parte delle piastrine che vengono attivate. Le piastrine si attivano a formare un tappo piastrinico che è instabile e dunque tende a rompersi se non è consolidato dalla formazione di una rete di fibrina che viene portata avanti dal processo coagulativo vero e proprio.

PATOLOGIA

SINDROMI EMORRAGICHE:

-malformazione dei vasi:

-*malattia di Rendu-Osler* in cui c'è un'alterazione della consistenza e della funzionalità della parete dei piccoli vasi. Questo si traduce con il tempo in un'emorragia delle mucose soprattutto.

-*Porpora senile* caratterizzata da un'alterazione del connettivo sottocutaneo che fa da sostegno per il distretto capillare, si manifesta con alterazione dei vasi.

-*lo scorbutto* che è una alterazione dei vasi

-vasculiti immuni:

1.*Porpora di Schonlein-Henoch (la più nota)*

2.*porpora da Farmaci*

-vasculiti infettive:

1.*batteriche*

2.*virali*

-vasculiti da paraproteinemie:

1.*malattia di Waldenstrom*

2.*Crioglobulinemia*

Nella *Malattia di Rendu-Osler* si formano delle dilatazioni dei vasi e delle piccole arteriole che si vedono a livello della cute e delle mucose. A livello delle mucose è facile che si sviluppi un sanguinamento e dunque può comparire frequentemente epistassi o gengivorragie o anche di tutto il tubo digerente. Queste teleangectasie sono visibili nel cavo orale, ma sono presenti anche nello

stomaco nel duodeno nell'intestino tenue etc. Sono pazienti in cui il quadro emorragico tende a peggiorare negli anni e tendono a sviluppare una anemia sideropenica dovuta a queste emorragie croniche. È stato proposto ultimamente un trattamento con la *talidomide* che è un vecchio farmaco un tempo utilizzato per il mieloma ad azione antiangiogenetica e riesce in parte a revertire la formazione di vasi anomali.

La *Porpora senile* negli anziani tende a svilupparsi in zone sottoposte a piccoli traumi anche banali. Si formano delle ecchimosi del sottocute che si manifestano quando, come negli anziani, il sottocute è atrofico e quindi il connettivo che sostiene i vasi si è ridotto di spessore e consistenza. Quindi i vasi non hanno protezione e si rompono facilmente. Negli anziani è una cosa che compare facilmente ed è banale dunque non c'è da allarmarsi. È una porpora di tipo vasale.

La *Porpora di Schonlein-Henoch* si manifesta nei bambini e nei giovani ed è una vasculite immune che consegue a un'infezione di tipo batterico di solito sostenuta da Streptococchi. Interessa tutti i vasi dell'organismo. È una porpora. Si manifesta con dolori addominali perché c'è una vasculite intestinale e renale e con artralgie. È una malattia di tipo immunologico e viene anche chiamata porpora reumatica. Solitamente si risolve senza dare particolari problemi. In questi casi le piastrine e il processo coagulativo sono normali il problema è di vasculite.

La *Porpora allergica da farmaci* è una manifestazione abbastanza frequente la si vede anche in ospedale. Se il paziente che ha avuto la reazione è anche piastrinopenico la reazione è più eclatante. Questo succede in reparto di ematologia dove i pazienti fanno chemioterapia blastizzante diventano piastrinopenici sviluppano infezioni fanno antibiotici e manifestano una reazione all'antibiotico. Non è grave, ma è impressionante da vedere.

PIASTRINE

Nell'emostasi c'è una componente piastrinica in cui le piastrine vengono attivate dal contatto con il collagene sottoendoteliale quando l'endotelio è stato distrutto o lesionato e si aggregano tendendo a formare il tappo piastrinico che è la prima difesa contro questa lesione che provoca perdita ematica. Le piastrine sono delle piccolissime cellule senza nucleo, hanno una vita limitata a massimo una settimana. Si formano a partire dai megacariociti che si trovano a livello midollare. Dalle propaggini del citoplasma dei megacariociti si formano le piastrine. Le piastrine contengono granuli che hanno all'interno sostanze importanti per il processo emostatico e collaborano con i fattori della coagulazione per arrivare al processo coagulativo completo.

Il deficit piastrinico può essere di tipo quantitativo o qualitativo.

La *sintomatologia emorragica* è caratterizzata da segni e sintomi prevalentemente a livello di cute e mucose. Si manifestano gengivorragie, epistassi, petecchie, porpora, ecchimosi (NB: ecchimosi non ematomi che sono grosse raccolte ematiche che causano anche compressione), meno e metrorragie, emorragie digestive, emorragie del sistema nervoso centrale quest'ultime rare e gravissime.

Mostra alcune foto di un ecchimosi scatenata dall'inserzione di un accesso venoso o in zone esposte a piccoli traumatismi o alla cintura

Le petecchie ovvero piccole chiazze emorragiche sottocutanee che convogliano assieme a formare la porpora e si localizzano nelle zone più declivi, dove la pressione venosa è più alta. Se si sospetta diatesi emorragica da piastrinopenia andiamo ad osservare le caviglie.

Le ecchimosi si formano dove si inseriscono gli aghi per gli accessi venosi, oppure per traumatismi che possono essere anche banali e li osserviamo pure dove ci sono dei lacci o degli elastici stretti in caso di piastrinopenia.

Il deficit piastrinico può essere dato da una diminuita funzionalità o da una conta piastrinica alterata dunque ci sono:

PIASTRINOPENIE: è un'evenienza abbastanza comune e la definiamo tale quando il numero di piastrine mostrato dall'emocromo risulta inferiore al limite normale inferiore a 140.000/mm cubo. Fino a quando la conta non scende sotto 50.000 non accade nulla sempre che queste funzionino bene. Cioè le 200.000-300.000 piastrine che tutti abbiamo sono anche troppe per le nostre esigenze. Sotto le 10.000 c'è un rischio emorragico consistente. Infatti arrivata a questa soglia si trasfondono i pazienti piastrinopenici con trasfusione di piastrine.

Possono essere causate da:

-diminuita produzione midollare

-umentata distruzione, consumo

-sequestro soprattutto in caso di splenomegalia.

La milza è una sede di sequestro delle piastrine, circa 1/3 della massa piastrinica si trova all'interno. Se la milza è molto grossa le piastrine in circolo diminuiscono.

In quelle da **diminuita produzione** non sono isolate di solito coesiste una leucopenia, un'anemia o una granulocitopenia. Nell'aplasia midollare tutti gli elementi cellulari sono ridotti e c'è una pancipopenia. Nelle leucemie acute può esserci una leucocitosi formata da blasti leucemici e tutti gli elementi normali sono ridotti. Tutte le patologie che interessano il midollo sostituendolo (linfoma, mieloma, mielofibrosi) possono dare piastrinopenia. Anche le anemie megaoblastiche da carenza di folati e di B12 possono accompagnarsi a piastrinopenia.

Quelle da **umentata distruzione**.

Patogenesi immune → *Porpora trombocitopenica idiopatica o Morbo di Werloff*

→ *da farmaci*

→ *da infezione*

→ *collagenopatie*

Patogenesi non immune -->CID

-->*Sindrome di Moskowitz o Porpora trombocitopenica* rara ma potenzialmente molto grave.

Il *Morbo di Werloff* è la forma di piastrinopenia più frequente. Ha un sottotipo acuto che compare nell'infanzia in seguito a un'infezione virale e tende ad una risoluzione spontanea. Nell'adulto si osserva una forma sub-acuta o cronica che colpisce prevalentemente le donne anche giovani. L'esordio non è acuto, rispondono molto bene agli steroidi e alla terapia immunosoppressiva, ma tendono a ricadere.

La patogenesi è autoimmune, si formano degli auto-anticorpi IgG contro le glicoproteine della membrana piastrinica e fissano il complemento, ma non sono da soli in grado di promuovere la distruzione piastrinica: le piastrine vengono sensibilizzate perché nel momento in cui passano attraverso la milza si trovano a contatto con i macrofagi splenici che hanno un recettore per l'Fc del anticorpo. Riconoscono le piastrine che sono coperte da queste immunoglobuline, le fagocitano e le distruggono. Questo avviene nella milza e quindi talvolta in queste patologie si procede alla splenectomia. Il midollo nella maggioranza dei casi continua a produrre le piastrine, quindi il midollo è ricco di megacariociti, questo non è vero sempre, ma le piastrine continuano a essere distrutte. Se fosse un'aplasia ci sarebbe midollo vuoto, ma ci sarebbe anche leucopenia e anemia.

La terapia è affrontata con i cortisonici che sono immunosoppressori e riducono la produzione di questi auto-anticorpi. Nelle forme più gravi in cui serve un'azione immediata che il cortisone non può produrre si usano immunoglobuline ad alte dosi per via endovenosa. Queste vanno a saturare i siti di legame di macrofagi che così non hanno più siti di legame disponibili per le piastrine. Ultimamente inoltre è risultato efficace il Rituximab (anti-CD20).

Mostra un grafico in cui la conta piastrinica inizialmente è sotto i 10.000 si somministra il Prednisolone e le piastrine salgono tendendo poi a ricadere momento in cui si scala il cortisone. Se la terapia steroidea non è sufficiente si può procedere alla splenectomia come terapia di seconda linea. Dopo la splenectomia nella maggioranza dei casi la conta piastrinica si normalizza.

PIASTRINOSI: *Trombocitemia*. Anche nelle piastrinosi ci possono essere problemi emorragici.

PIASTRINOPATIE:

-*Sindrome di Bernard Soulier* ovvero un deficit di alterazione con il fatto di VonWillebrand.

-*Malattia di Glanzmann* ovvero una trombostenia. Sapete che le piastrine nella formazione del trombo si retraggono e si aggregano. Queste azioni non ci sono perché la malattia provoca un deficit. Parla di uno schema nel quale è raffigurata l'interazione della piastrina e del fattore di Von Willebrand con il collagene e il sub endotelio. Questa interazione nella malattia non può avvenire.

COAGULAZIONE

Attraverso una via intrinseca e una estrinseca si arriva a un risultato finale con la trasformazione della protrombina in trombina. La trombina poi taglia il fibrinogeno in fibrina, che a sua volta avvolge "a rete" le piastrine e consolida il tappo piastrinico.

-*Emofilia A*: malattia ereditaria legata al cromosoma X da deficit del fattore VIII. Generalmente dunque le donne sono portatrici sane e i maschi sono malati, viene trasmessa dalle donne e si ammalano i maschi. L'incidenza è di 20 casi su 100.000 maschi nati dunque non è bassa. Il deficit funzionale può essere causato da mutazioni o delezioni geniche. È definito grave quando l'attività è sotto l'1%, medio sotto il 5% e lieve tra il 5-25% ovviamente in quadro clinico sarà meno grave a seconda dei livelli di fattore VIII. Il fattore VIII collabora a stretto contatto con il FVW nei vasi processi emostatici.

(mostra un albero genealogico classico da malattia legata al cr X). Il deficit è di coagulazione dunque la prima fase quella relativa all'aggregazione piastrinica è conservata e quindi non ci sono emorragie da piccole ferite né petecchie. In genere nei soggetti malati (bambini maschi) il quadro clinico compare quando i bambini iniziano a gattonare e poi camminare. Vanno in contro a traumi e quando non si faceva profilassi si formavano emartri ovvero raccolte di sangue nelle articolazioni (ginocchia, gomiti, caviglie). Se gli emartri si ripetono vanno in contro a fibrosi e danno anchilosi. Questo oggi non succede più, si fa una profilassi. Altra complicanza sono gli ematomi ovvero grosse raccolte di sangue nel connettivo o nel muscolo e possono essere anche profonde e formarsi nel retro-peritoneo andando a comprimere gli organi. Possono essere spontanei oppure causati da trauma. Mostra foto di emarto e quadro operatorio correlato. Altra foto che mostra un ematoma formatosi a seguito di un'iniezione endovenosa nella gamba. Questi ematomi poi affiorano dal sottocute. La terapia è una profilassi, ai pazienti malati si somministra il fattore carente e loro imparano ad auto-somministrarselo. (prima erano dei crioprecipitati ora sono molecole ricombinanti di fattore VIII). Dunque è una malattia che va prevenuta.

-*Emofilia B* malattia più rara da deficit del fattore IX simile nella trasmissione all'emofilia A (trasmissione di tipo diagenico, attraverso le donne). La differenza è che le portatrici possono anche essere sintomatiche

-*Malattia di Von Willebrand*: malattia più frequente tra queste che presenta vari tipi. Le anomalie molecolari e la trasmissione sono variabili la caratteristica costante è il deficit di attività del FVW. Il FVW interagisce sia con la fase piastrinica che con la fase emocoagulativa vera e propria, in particolare con il fattore VIII. Mostra una figura nella quale ci sono le piastrine con i loro siti di adesione e recettori, dall'altra parte c'è l'endotelio con il collagene esposto e perché si sviluppi un'interazione tra i due è necessario che sia presente il FVW e il fattore VIII. Se c'è carenza il meccanismo funziona male e poco. La clinica è molto variabile da forme lievi a molto gravi. La sintomatologia emorragica può essere mucoso-cutaneo (dovuto a un deficit di funzionalità delle piastrine) o anche manifestazioni simili a quelle delle malattie emofiliche.

-*altre coagulopatie meno frequenti* nelle quali c'è un deficit per ogni fattore della coagulazione.

-ci sono anche *coagulopatie dovute a diminuita sintesi dei fattori da parte del fegato*. Nelle epatopatie gravi ci può essere un difetto coagulativo da sintesi insufficiente. Il deficit dei fattori può essere anche dovuto alla mancanza di vitamina K (raro) oppure all'uso di farmaci dicumarolici (warfarin antivitaminica K) che provoca un deficit di tutti i fattori vitamina K dipendenti.

Dice che ci sarebbe un'altra parte della lezione sulle patologie trombofiliche, ma che non ha il tempo di svolgerle e che saranno svolte in altri corsi (medicina interna o medicina di laboratorio), e che comunque gli ematologi si occupano più di emorragie che di trombosi.

Lezione di Ematologia del 12/12/2013 (1)

Lezione di Ematologia del 12/12/2013

Professor Ambrosetti

Sbobinatore: Riccardo Lorenzini

Revisore: Chiara B. Santoro

SINDROMI MIELODISPLASTICHE

(slide 1 e 2) Parliamo delle sindromi mielodisplastiche, ovvero delle mielodisplasie. È un termine, una categoria, che è una specie di contenitore in cui entrano malattie con caratteristiche abbastanza diverse di tipo clinico e forse anche di tipo eziopatogenetico. Le malattie pur essendo molto diverse, hanno delle caratteristiche in comune. Ci sono forme di SMD a decorso dolente e prognosi relativamente buona, sono in genere quelle che si manifestano come anemia; è interessata la serie rossa, e non è interessata la serie mieloide e megacariocitaria. Ci sono SMD con pancytopenia, anemia, neutropenia, piastrinopenia, che può essere anche grave e peggiorare nel tempo. Queste situazioni comportano dei grossi rischi di tipo infettivo ed emorragico. Molte SMD già si presentano con caratteristiche preleucemiche, oppure tendono a trasformarsi in leucemie acute mieloidi. C'è, quindi, uno spettro di forme: dalle anemie refrattarie, con anemia isolata (i pazienti vengono trattati con trasfusioni croniche) alle forme preleucemiche che evolvono rapidamente in leucemia mieloide cronica.

(slide 3) Le SMD le possiamo dividere, dal punto di vista della causa, in forme apparentemente spontanee, primitive (dico apparentemente perché anche queste hanno una causa: ambientale, lavorativa, ecc) oppure forme in cui è presente una causa che le ha precedute: come un trattamento chemioterapico o radioterapico o entrambi, che possono causare a distanza di anni una SMD o una leucemia o entrambe. Ci sono casi di pazienti che hanno fatto chemioterapia o radioterapia per tumori vari (es. tumore mammella, linfoma di Hodgkin, trapianto autologo di cellule staminali); questi pazienti possono avere un discreto rischio di sviluppare certe forme di SMD. Sono le forme secondarie (therapy related myelo-displastic syndromes) o addirittura leucemie, in genere mieloidi.

(slide 4) Caratteristiche comuni di queste malattie, che sono, peraltro, eterogenee:

• *f* Disordine clonale, quindi vengono definite malattie neoplastiche.

• *f* Citopenia: monolineare (senza leucopenia o senza piastrinopenia), bilineare (anemia e leucopenia, anemia e piastrinopenia) o trilineare (pancitopenia).

• *f* La cosa paradossale è che in periferia c'è pancitopenia, ma il midollo invece è ricco. Non è povero come succede nell'aplasia, in cui c'è pancitopenia periferica e il midollo è vuoto.

• *f* Il midollo è ricco ma displastico. Il termine displasia è soprattutto per gli aspetti morfologici che poi rispecchiano una displasia funzionale. Infatti il midollo ce la mette tutte, ma non ce la fa; c'è inefficacia della sua emopoiesi.

• *f* Le SMD possono, più o meno facilmente a seconda delle forme, evolvere in leucemia. È un'altra caratteristica molto importante per le prospettive terapeutiche.

• *f* Malattia dell'età avanzata, degli anziani. L'incidenza aumenta moltissimo con l'età. Eccezione: alcuni pazienti giovani hanno SMD secondaria a radioterapia o chemioterapia, fatta per dei tumori. Sviluppano la SMD secondariamente.

(slide 5) Le SMD si collocano ai confini con altre malattie di tipo ematologico, soprattutto leucemie mieloidi acute. Talora i confini sono indistinti anche perché le SMD tendono ad evolvere in LMA. Ci sono anche zone di sovrapposizione con malattie mieloproliferative, ce ne occuperemo a proposito di alcune forme di SMD; c'è una categoria riconosciuta dalla WHO di SMD/mieloproliferative, sono patologie di confine. C'è anche una qualche sovrapposizione con l'anemia aplastica. Quindi i confini con altre forme non sono del tutto chiari e definiti.

(slide 6) Epidemiologia

Sono malattie relativamente comuni. L'incidenza è molto variabile a seconda dei registri. Si va da 3/4 a oltre 12 casi annui ogni 100.000 abitanti. Si calcola che ogni anno si ammaliano di SMD tra i 15.000 e 20.000 pazienti, con età media avanzata. Sopra i 70 anni l'incidenza è notevole: 20/30 casi annui per 100.000 abitanti. La maggior parte dei pazienti ha superato i 70 anni. I confini dell'età anziana sono stabiliti sui 70, comunque non sono pazienti giovani. Sono un problema sociale e sanitario perché molti pazienti con SMD richiedono cronicamente trasfusioni di sangue, e ne richiedono molte: almeno 2/4 unità al mese. Questi pazienti sono la maggioranza dei trasfusi cronici, con le problematiche della trasfusione cronica: sovraccarico di ferro e fabbisogno di una terapia ferrochelante.

(slide 7) Casistiche in Europa

L'incidenza varia molto: si va da 4 a oltre 10, a seconda delle zone e a seconda dei registri. Queste differenze rispecchiano in parte l'età media variabile, e la capacità diagnostica. Essendo la SMD una patologia dell'anziano e del grande vecchio, non sempre viene

diagnosticata. Il medico talvolta dice che l'aspettanza di vita è limitata, ed è inutile fare tanti esami di approfondimento diagnostico. Quindi, talora, la SMD non viene cercata con chiarezza. Nelle zone in cui la classe medica è più sensibilizzata l'incidenza sale.

(slide 8) Negli USA, a confronto con altre patologie ematologiche, le SMD sono quelle con l'incidenza più elevata, ci sono 14.000 casi. La forma più frequente di leucemia, la CLL, ha un'incidenza inferiore alle SMD.

(slide 9) Grafico che mostra come, con l'aumentare dell'età, aumenta l'incidenza della malattia. Al di sopra dei 70 anni l'incidenza è decisamente elevata. E' una malattia soprattutto dell'anziano.

(slide 10) Vi sono alcuni fattori lavorativi o ambientali, che aumentano il rischio di contrarre una SMD. Sono i soliti, quello che possono anche favorire le leucemie acute, soprattutto mieloidi.:

• derivati degli idrocarburi

• solventi organici

• fumo, che dà un aumentato rischio di SMD

Vi sono alcune categorie: lavoratori di industria chimiche, petrolchimiche e trasportatori, benzinai (contatto con i carburanti), asfaltatori, che hanno un rischio maggiore di contrarre queste malattie.

(slide 11) Patogenesi

Alla base delle malattie c'è un difetto, una clonalità, che determina un deficit acquisito delle cellule staminali emopoietiche, che di solito è primitivo, ma talora è dovuto a un pregresso trattamento chemioterapico. Il clone deficitario emopoietico displastico sostituisce mano a mano la emopoiesi normale, come succede per le altre forme di leucemia. E' caratterizzata dall'emopoiesi inefficace. Il midollo è ricco e displastico, si sforza di produrre elementi, ma la produzione è deficitaria e il risultato è la citopenia periferica; può essere espressa in una sola delle serie emopoietiche o anche in due o tre serie emopoietiche. Al contrario delle leucemie acute, nella prima fase della malattia, la capacità di maturare è conservata, mentre nelle leucemie acute c'è un blocco maturativo. Però, la capacità di maturazione può essere persa nella fase in cui la malattia evolve in leucemia acuta.

Un'altra caratteristica è l'instabilità genetica. I cloni tendono ad acquisire altre anomalie genetiche, quindi a cambiare la loro situazione, e quando viene acquisita una nuova anomalia genetica la malattia diventa più aggressiva.

(slide 12) Emopoiesi inefficace

Alla base dell'emopoiesi inefficace c'è un'alterazione dei meccanismi che interagiscono tra le cellule emopoietiche e il microambiente tissutale, molto importante per il funzionamento dell'emopoiesi. Si ha un aumento dell'apoptosi che rende spiegabile il fenomeno del midollo ricco e della citopenia periferica. Ci sono molte cellule nel midollo, ma molte di queste vanno in apoptosi, quindi il risultato è una produzione deficitaria. Questo può essere anche mediato dalla produzione di citochine, che possono favorire l'apoptosi. La risposta ai fattori emopoietici che stimolano l'emopoiesi è deficitaria. Nella SMD, soprattutto nelle forme con anemia, si può usare con risultati talora discreti l'eritropoietina. L'Epo nel paziente con SMD in genere è buona o elevata, ma somministrandola talora si migliora l'anemia. Infatti la sensibilità dell'eritropoiesi all'Epo è diminuita. Quindi il paziente necessita, per migliorare l'anemia, dosi aumentate. In alcuni casi sono efficaci anche i farmaci antiangiogenetici, questo suggerisce che ci sia anche una funzione della vascolarizzazione midollare come avviene in tanti altri tumori. Nell'evoluzione delle SMD in leucemia acuta la capacità di maturare diminuisce progressivamente e aumenta la quota di blasti immaturi, fino a quando la malattia si trasforma in leucemia acuta.

(slide 13) Schemino riassuntivo

La malattia è clonale con una alterazione dell'interazione con il microambiente, emopoiesi inefficace, a cui si aggiungono ulteriori danni genetici e si trasforma in leucemia.

(slide 14) In generale si manifesta in maniera insidiosa. In circa 1/3 dei casi la diagnosi è casuale. Facendo esami di controllo a persone anziane per altri motivi, si vede che c'è leucopenia asintomatica. Però nei casi in cui c'è una leucopenia e una piastrinopenia ci può essere un episodio infettivo facilitato dalla leucopenia, o un episodio emorragico facilitato dalla piastrinopenia. Vi è insufficienza midollare con citopenia. Il sintomo anemia è preponderante. La grande maggioranza dei casi ha anemia iporigenerativa di tipo macrocitico. In un terzo dei casi c'è anemia con leucopenia e nel 50% c'è pancitopenia. I casi con leucoplastrinopenia senza anemia sono una minoranza.

(slide 15) Se c'è piastrinopenia c'è diatesi emorragica, se c'è neutropenia ci può essere un episodio infettivo batterico o micotico che può essere l'esordio della malattia con cui si arriva alla diagnosi.

(slide 16) Diagnosi

Il sospetto nasce quando ci troviamo di fronte a un paziente con citopenia, anemia o pancitopenia, senza una causa apparente. E' una diagnosi di esclusione. Se il paziente è anziano la probabilità è aumentata, ancora di più con un precedente trattamento radioterapico (SMD secondaria). Per confermare la diagnosi ci si basa soprattutto sulla microscopia, questo perché il concetto di mielodisplasia deriva dalla morfologia delle cellule del sangue e del midollo. Le cellule hanno alcune alterazioni di tipo morfologico che vengono riassunte con il termine: displasia. Ancora oggi la diagnosi si basa soprattutto sull'esame microscopico. E' importante anche la citogenetica, l'esame delle anomalie cromosomiche. Abbastanza importante anche l'esame istologico della biopsia osteo-midollare. Si è sviluppata anche la citofluorimetria che può collaborare con la morfologia, per chiarire alcuni casi. Ci sono anche i dati di laboratorio che fanno da corredo per indagini diagnostiche.

(slide 17) Riassume le tecniche

Esame citomorfologico al microscopio sullo striscio di sangue periferico e sullo striscio di sangue midollare. Citofluorimetria. Istologia. Citogenetica.

Qui si pongono dei problemi etici. Andiamo a fare quelle cose nell'anziano di 85-90 anni? Forse no. Bisogna fare un ragionamento sulla ricaduta pratica delle diagnosi di certezza. Nel grande anziano si può arrivare alla diagnosi per esclusione in base al decorso, ma oltre a terapia di supporto (trasfusioni) non si può fare. La precisione diagnostica nel paziente anziano è meno importante. È difficile, peraltro, stabilire un limite di età, le condizioni nelle quali è il soggetto, comorbidità, prospettive, richieste del paziente e dei familiari.

(slide 18) Morfologia

Indagine cardine per confermare o meno la diagnosi.

Diseritropoiesi

Il processo displastico può interessare più o meno le varie serie emopoietiche: la serie rossa (eritropoiesi), mieloide e la serie megacariocitaria. La WHO ha definito, nel libretto delle malattie ematologiche, tutti i criteri morfologici. Per l'eritropoiesi ci sono questi reperti:

- megaloblastosi (megaloblasti giganti),
- sideroblasti (eritroblasti con depositi di ferro),
- carioressi (rottura del nucleo),
- gemmazioni nucleare,
- vacuolizzazione del citoplasma degli eritroblasti (la normale produzione di emoglobina è ostacolata),
- ponti tra nuclei.

Disgranulopoiesi

La disgranulopoiesi è difficile da definire e trovare, documentare.

-C'è una mancata segmentazione del nucleo dei granulociti che è caratteristica delle SMD. E' l'anomalia tipo Pelger: può essere congenita (persone che stanno benissimo con i leucociti non segmentati), se acquisita è un segno di displasia.

Dismegacariocitosi

L'alterazione del megacariociti è caratteristica delle SMD ed è importante per fare diagnosi. Soprattutto è importante la presenza di micromegacariociti, che invece di essere grandi, giganti, sono molto piccoli e anomali, cellule plurinucleate (il normale megacariocita ha un nucleo solo poliploide) o mononucleati grandi.

(slide 19) (mostra dei vetrini, NdR) Raccolta di campi dove ci sono eritroblasti grandi e binucleati. Sono segni di diseritropoiesi. Eritroblasto immaturo con i vacuoli nel citoplasma. Rottura/frammentazione del nucleo. Eritroblasti grandi. Granulazioni anomale negli eritroblasti.

(slide 20 e 21) (Commenta dei vetrini, NdR) Disgranulopoiesi. Il neutrofilo è non segmentato (anomalia di Pelger).

Mielociti con granulazioni di Chediack (non richieste all'esame). Micromegacariocita: cella piccola più o meno come le altre. Grande megacariocita con tanti nuclei o con un solo nucleo ma anomalo. La diagnosi richiede pazienza ed esame al microscopio dello striscio midollare o dello striscio periferico.

(slide 22) Cause DIVERSE di aspetti displastici

Gli aspetti displastici possono essere causati anche da fattori diversi dalla SMD.

- Le malattie da difetto di folati o di B12 posso dare aspetti abbastanza simili, una delle cose da escludere è la deficienza di queste vitamine, anche perchè l'anemia è macrocitica.
 - Sono rare le forme di diseritropoiesi congenite.
 - Alcuni farmaci chemioterapici (azatioprina) o immunosoppressori possono dare alterazioni simili a SDM primitive.
 - Metalli pesanti, alcool.
 - HIV. E' importante documentare che il paziente non abbia infezione da HIV.
- E' una diagnosi anche in parte di esclusione, bisogna escludere altre cause.

(slide 23) Anomalie citogenetiche

La citogenetica è altro elemento importante per la diagnosi e la classificazione delle SMD. Le anomalie del cariotipo ci sono in oltre metà dei casi delle SMD primitive e nella maggioranza di quelle secondarie, che hanno una diagnosi peggiore. Le anomalie possono essere singole e anche complesse. A differenza di quello che si vede in molte leucemie acute mieloidi, dove spesso si trovano delle traslocazioni, qui ci sono alterazioni quantitative: delezioni, o aggiunte di materiale. Possiamo avere monosomie o trisomie di alcuni cromosomi. Alcune di queste anomalie sono in comune con le LAM, infatti le SMD posso evolvere in LAM. Queste alterazioni citogenetiche spesso correlano con la prognosi e con l'evoluzione critica della malattia. Quando la malattia evolve, peggiora questo stadio clinico compaiono alterazioni aggiuntive a livello genetico.

(slide 24) Esempi di anomalie con perdita del cromosoma 5,7,11,17,Y. Le acquisizioni del cromosoma 8 (trisomia 8) e le traslocazioni sono meno frequenti, ma anche queste si possono vedere.

(slide 25) Classifica delle varie alterazioni

Tra le più frequenti, in questa grossa casistica di oltre 2000 pazienti, vince il cromosoma 5 delezione, può essere nella metà dei casi isolata o complessa, associata ad altre alterazioni. Delezioni e monosomia 7, trisomia 8, 18,20,Y, ecc.

Le anomalie sono tante e varie, come se ci fossero tante diverse malattie. Può essere che il meccanismo genetico-molecolare sia diverso da forma a forma. Questo spiega l'eterogeneità clinica, poi però alcune caratteristiche sono in comune. La complessità della citogenetica si riflette sulla clinica.

(slide 26) Le curve di sopravvivenza azzurre sono le migliori, sono con cariotipo normale o una sola anomalia citogenetica. Nelle rosse (le peggiori) ci sono parecchie anomalie, da 4 a 6. La complessità delle alterazioni citogenetiche è un fattore di prognosi importante. E' quindi importante la morfologia, la citogenetica, la citofluorimetria che deve essere eseguita da mani esperte (non è facile da interpretare), l'istologia ha un ruolo complementare rispetto alla morfologia ematologica. L'istologia può essere importante quando c'è fibrosi midollare, perché l'aspirazione è difficoltosa, c'è la punctio sicca o dry tap. In questi casi non si riesce a fare uno striscio midollare decente, bisogna basarsi sulla istologia della biopsia osteomidollare.

(slide 27) Classificazione

Negli anni '70 e '80 è stata proposta una classificazione sulla morfologia e sulla citochimica, chiamata FAB, dagli ematologi Francesi, Americani e Inglesi. Prevedeva 5 forme diverse di SDM:

• f AR, anemia refrattaria

• f Anemia sideroblastica idiopatica acquisita (esiste anche quella congenita) (ASIA)

• f AR con eccesso di blasti (AREB)

• f AREB-t in trasformazione, che sta evolvendo in leucemia acuta

• f leucemia mielomonocita cronica (LMMC). Non è la leucemia mieloide cronica, è più rara, ed era stata inserita tra le SDM perché ha degli aspetti displastici.

Quella classificazione si basava sulla morfologia. La percentuale di blasti nel sangue periferico e nel midollo nelle prime due forme è bassa, prevale l'anemia e la tendenza ad evolvere in leucemia è bassa, poco oltre il 10%. Nelle forme AREB e AREB-t la quota blastica è aumentata (5-20% e 20-30%), la tendenza a evolvere in leucemia è molto più alta. La LMMC è caratterizzata soprattutto dalla monocitosi, ma sono anche aumentati i granulociti neutrofili. Assomiglia, per certi aspetti, alla leucemia mieloide cronica.

(slide 28) L'anemia sideroblastica è caratterizzata dalla presenza di almeno il 15% nel midollo di sideroblasti ad anello. Alla colorazione normale gli eritroblasti hanno un citoplasma con aloni chiari perché la sintesi di Hb non è normale. Sulla destra con la colorazione di Perse, per evidenziare i granuli di ferro, alcuni elementi hanno una coroncina/anello di granulini verdastri di ferro, questi sono i sideroblasti. Sembrava che la storia dell'anemia sideroblastica fosse un fatto puramente accademico, ma ha una prognosi migliore delle altre. Trovare i sideroblasti migliora la prognosi. E' anche una base patogenetica.

(slide 29) Quadro di anemia refrattaria con molta serie rossa ed eritroblasti, con fenomeni di diseritropoiesi.

(slide 30) Anemia refrattaria con eccesso di blasti. Compaiono gli elementi immaturi, sembra il midollo della LMA.

(slide 31) La classificazione FAB mette il limite dei blasti al 20%, però è stato messo in discussione.

(slide 32) La leucemia mielomonocitica cronica con monocitosi con quota blastica inferiore al 20% nel midollo. Nel quadro periferico ci sono anche parecchi granulociti neutrofili. Infatti si chiama MIELOmonocitica cronica, e non monocitica cronica.

(slide 33) La classificazione FAB, abbastanza antica, è stata criticata e superata. In realtà la LMMC era stata messa un po' forzatamente in questo contenitore, perché ha delle caratteristiche più proliferative che displastiche. L'anemia refrattaria è molto eterogenea. Nella FAB è caratterizzata dalla presenza di pochi blasti, meno del 5%. Poteva essere un'anemia semplice o anche una pancitopenia, ma quando c'è una semplice anemia il problema è solo quello di trasfondere il paziente. Nella pancitopenia grave il rischio di complicanze è grave, la prognosi è peggiore. Le AREB-t, in realtà, sono leucemie acute, si comportano come leucemie acute. Inoltre la classificazione FAB non tiene in conto del dato citogenetico, che è importante.

(slide 34) La classificazione WHO ha cercato di superare questi inconvenienti e ha proposto alcune variazioni alla FAB. Sono state perfezionate nel tempo: prima classificazione nel '97, poi 2001, poi 2008, che probabilmente verrà aggiornata prossimamente.

(slide 35) L' AREB-t è stata eliminata come categoria, se i blasti sono più del 20% nel midollo, è una LMA. L'AREB, che come percentuale di blasti andava dal 5 al 20%, viene divisa in due categorie: fino al 10 e dal 10 al 20. E' stata riconosciuta la Sindrome del 5q-, che era già stata segnalata precedentemente, ma che non era compresa nella classificazione FAB. L' LMMC è stata tolta ed è finita tra i disordini mielodisplastici/mieloproliferativi, perché era a cavallo dei due. Si è distinta l'anemia refrattaria pura, da (n.d.r. quella con) pancitopenia, che ha una prognosi peggiore.

(slide 36 e 37) Ne è uscito questo schema complicato. (Ripete)

La classificazione è stata partizionata e complicata. Sono state escluse alcune forme e probabilmente verrà ulteriormente perfezionata quando avremo ulteriori dati sulla caratterizzazione molecolare di queste malattie.

(slide 38) SINDROME DEL 5Q-

Non frequente, ma nemmeno rarissima. Colpisce soprattutto le donne. E' importante riconoscerla perché ha una prognosi buona. Se con l'analisi citogenetica si vede che il paziente ha la sindrome del 5q-, delezione del braccio lungo del cromosoma 5, ha una aspettanza migliore degli altri. C'è solo anemia e, curiosamente, piastrinosi. Generalmente nelle SMD le piastrine sono diminuite, qui sono o normali o aumentate. Altra caratteristica sono i megacariociti strani con nucleo tondo, mononucleati. Per questa forma esiste una terapia. Funziona la lenalidomide, che si usa molto per la terapia del mieloma e alcuni linfomi NH.

(slide 39) Un'altra curiosità: riprendendo il discorso dell'anemia sideroblastica. Sembra una curiosità accademica, ma in realtà ha una prognosi migliore. Ha una caratteristica molecolare tutta sua: alterazione, mutazione di un gene (SF3B1), che è un componente dell'apparato di splicing del DNA. Quindi trovare una sideroblastica e questa alterazione del gene con indagini molecolari è importante anche per la prognosi. Le forme con SF3B1 vanno bene, le altre vanno male. E' importante trovare la sideroblastica che generalmente si accompagna alla mutazione di questo gene. Si stanno facendo progressi per capire anche la patogenesi di queste forme, scoprendo alterazioni molecolari che rendono ragione di come si manifestano e di come originano queste malattie. Ci troviamo di fronte a tante malattie diverse con caratteristiche in comune, ma patologia diversa.

(slide 40) CLINICA

Ci sono forme a prognosi buona favorevole con decorso indolente, stabili per tanti anni. Il dato clinico più rilevante in genere è l'anemia. I pazienti talora rispondono alla terapia con Epo, ma spesso o non rispondono o solo parzialmente e temporaneamente. Questi sono pazienti destinati a fare tante trasfusioni. Se si fanno tante trasfusioni si va incontro ad un accumulo di ferro, emosiderosi ed emocromatosi; e quindi, in genere dopo 20 sacche trasfuse, quando i livelli di ferritinemia superano i 1000, si comincia la ferrochelazione, altrimenti il paziente va incontro a complicanze a livello cardiaco, epatico, renale, pancreatico, etc. Vale la pena fare ferrochelazione se l'aspettanza di vita del paziente è discreta. Se siamo di fronte a una forma che ha la probabilità di trasformarsi in leucemia mieloide cronica nel giro di meno di un anno, è inutile fare la ferrochelazione, si può fare ma è un po' sprecata. Se la spettanza di vita è di vari anni, è opportuno fare chelazione. Oggi esistono ferrochelanti orali. Prima c'era solo la (*il nome del farmaco non è comprensibile, NdR*), attualmente esistono ferrochelanti orali che costano parecchio e possono dare problemi digestivi.

Le forme che hanno queste caratteristiche sono soprattutto quelle a basso rischio, refrattarie e sideroblastica. Se c'è una citopenia e pancitopenia, tende a peggiorare il rischio di andare incontro a complicanze infettive/emorragiche, che diventa alto. Questi pazienti possono morire non tanto di complicanze della leucemia, ma di complicanze infettive/emorragiche senza che la malattia si sia evoluta in leucemia. Hanno le stesse complicanze di un'anemia aplastica, che è molto più rara. Le forme a prognosi peggiore sono quelle che evolvono improvvisamente in leucemia acuta, sopravvivono meno di un anno.

(slide 41) Registro di Dusseldorf

Hanno creato un registro delle SDM e la curva di sopravvivenza. La media è di 24 mesi, ma qui cascano tutte (*sia le forme a buona prognosi che quelle a cattiva prognosi, NdR*), comunque è una malattia di cui si muore.

(slide 42) L'evoluzione delle SMD può essere varia. Forme a buona prognosi che non evolvono, con decorso indolente, ci sono quelle che evolvono lentamente a distanza di anni, e ci sono forme che evolvono più o meno rapidamente in leucemie mieloidi acute. Cambia, ovviamente, la prognosi di questa malattia. Sono eterogenee anche nel tipo di evoluzione.

(slide 43) Fattori prognostici

I fattori prognostici sono correlati a paziente.

• Il paziente vecchio ha spettanza inferiore a un paziente giovane.

• Lo status del paziente. Se il paziente è anche malmesso, le aspettative sono più scarse. E' importante la comorbidità (diabete, ipertensione, cardiopatia, qualche altro tumore).

Ci sono fattori di rischio correlati alla malattia:

• Citogenetica;

• percentuale di blasti, più blasti ci sono, più è facile che la malattia evolva presto in acuta;

• il grado di citopenia condiziona il rischio di complicanze emorragiche;

• dipendenza trasfusionale, più si fanno, più rischi ci sono di accumuli di ferro, a meno che il paziente non venga ferrochelato in maniera ottimale;

• fibrosi midollare, che è rara, ma ci può essere;

• marcatore LDH, che in tutte le emopatie è sempre un fattore di rischio;

• alterazioni molecolari sia positive che negative.

Altri fattori che influenzano il decorso sono le complicanze:

• infezioni;

• emorragie ;

• cardiopatia da emocromatosi;

• evoluzione in LAM;

Anche il tipo di terapia può far decidere:

• terapia di supporto fatta bene, con la chelazione etc. Possiamo migliorare l'aspettanza di vita;

• la chemioterapia, che ha un ruolo modesto nella SMD, anche perché è (*una malattia, NdR*) tipica di pazienti anziani;

• *f* il trapianto: il trapianto allogenico è l'unica terapia che può guarire una SMD, ma è applicabile solo nei rari casi di paziente giovane, tutti gli altri pazienti non sono guaribili. Oggigiorno si arriva a trapiantare fino quasi a 70 anni.

• *f* Farmaci: Lenalidomide (sindrome del 5q-) e azacitidina (demetilante). In molte SDM c'è una situazione di ipermetilazione del genoma che dà un silenziamento dei geni. Se vengono silenziati geni con attività antitumorali è un fatto negativo, che può essere, almeno in parte, revertito da questo farmaco demetilante.

(slide 44) Molti di questi fattori prognostici li ritroviamo nelle classificazioni FAB e WHO. La FAB nelle varie categorie dà curve di sopravvivenza diverse. Le forme di anemia refrattaria e anemia refrattaria con ring sideroblasts vanno meglio della mielomonocitica cronica e AREB e AREB-t. Le prime forme hanno solo anemia, le altre hanno una quota blastica in aumento.

(slide 45) La classificazione WHO è più complessa, ma rispecchia un prognosi diversa. La 5q- è quella che va relativamente meglio, la sopravvivenza mediana è 10 anni. (ci sono, Ndr) AREB1, AREB2; è scomparsa la LMMC.

(slide 46) Queste sono le curve speculari di tendenza ad evolvere in leucemia acuta. Le forme che evolvono prima in LMA sono quelle che vanno peggio. La 5q- è in basso, raramente evolve in LMA; la sideroblastica ancora di meno.

(slide 47) Possiamo, in base alla classificazione WHO, distinguere due grossi gruppo di SMD:

In quelle a buona prognosi mettiamo l'anemia sideroblastica, quella refrattaria, la sindrome del 5q-. In quelle a cattiva prognosi c'è invece la AREB (o RAEB): c'è citopenia refrattaria con displasia multilineare, quella nuova categoria inventata dalla WHO, in cui non c'è solo l'anemia, ma anche una pancitopenia, dove la quota blastica è modesta, caratteristica delle RAEB. Anche se non ci sono i blasti, quindi l'evoluzione leucemica non è molto probabile né rapida. La pancitopenia condiziona tutte le complicanze infettive emorragiche.

(slide 48) Nel '97 Greenberg ha proposto uno score prognostico per le SDM, è molto importante e tuttora in uso. Serve per dire al paziente se andrà male, se andrà bene o se andrà così così, ma soprattutto serve per prendere decisioni terapeutiche. Per esempio un paziente che non è troppo vecchio, non è malmesso, etc. dobbiamo decidere se trapiantarlo o meno. Il trapianto allogenico di midollo costituisce un rischio di mortalità precoce o tardiva: vale la pena affrontare il rischio se la prognosi della SMD è sfavorevole, se il paziente ha la sindrome del 5q-, non conviene, o discutibile se convenga correre questo rischio.

Questo IPSS si fonda su:

• *f* percentuale di blasti: meno blasti ci sono, meglio va.

• *f* Sul cariotipo: qui è diviso, semplicisticamente, in cariotipo a buona prognosi, intermedia o sfavorevole. Il tipo buono sono: la delezione dell'Y, la 5q- isolata o la delezione del 20q isolata. Quelle sfavorevoli sono le anomalie complesse con più di 3 alterazioni e l'anomalia del cromosoma 7. Tutte le altre sono intermedie. E' una classificazione abbastanza semplice.

• *f* Numero di citopenie: più citopenie ci sono, peggio vanno. Se ce ne sono 0 o 1, quindi se al massimo c'è anemia, lo score è buono. Se ce ne sono 2 o 3 lo score è peggiore.

Combinando tutto ciò si arriva a formulare un punteggio: basso rischio è 0, intermedio 1 è 0.5-1, intermedio 2 è 1.5-2, alto è superiore o pari a 2.5.

(slide 49) In cosa si traduce questo score? In curve di sopravvivenza diverse. Vedete a sinistra la sopravvivenza, a destra la probabilità di evoluzione in LMA. Sono sempre curve speculari. In basso c'è una tabella: nel basso rischio la mediana di sopravvivenza è quasi 6 anni, e la mediana di trasformazione in LMA è oltre 9 anni, quindi la tendenza è bassa. Mano a mano che andiamo nell'intermedio 1, 2, alto vedete che la sopravvivenza cala parecchio. Nell'alto si va sotto l'anno, e anche la mediana di trasformazione leucemica, logicamente, cala parecchio. (Secondo me ha sbagliato a leggere quest'ultimo dato. Dalla tabella non è la mediana dei trasformazione in LMA che diminuisce, ma la mediana di sopravvivenza, Ndr)

(slide 50) Questa figura dà un'idea di come sia la sopravvivenza nelle varie categorie di rischio. Quindi, questa classificazione IPSS è importante per dire al paziente che aspettanza ha, e soprattutto per decidere cosa fare. Vi faccio un esempio di ricaduta terapeutica: quel farmaco Azacitidina, di cui vi parlavo prima, che è un demetilante, è un farmaco costoso, come tutti i farmaci biologici. Viene concesso da nostro ministero solo per i pazienti che hanno un rischio intermedio 2 o alto. Nelle altre categorie non ha senso far una terapia costosa, visto che hanno comunque una prognosi discreta.

(slide 51) Un altro parametro che non era stato valutato dalla IPSS è la dipendenza dalle trasfusioni. E' un po' un uovo di Colombo, ma è comunque un parametro importante. A Pavia c'è un gruppo di ricercatori particolarmente attenti alle SDM, hanno anche un registro dei pazienti, e hanno scoperto loro l'importanza dell'apporto trasfusionale nella prognosi dei pazienti. Hanno anche formulato, ma nessuno lo chiederà all'esame, un WPSS. Cioè un IPSS corretto con la classificazione WHO, dove hanno aggiunto anche il fabbisogno trasfusionale. I pazienti che vengono trasfusi hanno delle problematiche maggiori di quelli che non ne hanno bisogno, o vengono trasfusi poco.

(slide 52) Nell'IPSS la classificazione citogenetica era abbastanza semplice, e naturalmente le cose semplici poi vengono complicate. Hanno complicato la classificazione citogenetica, e l'hanno resa articolata in 5 categorie, invece che 3. Invece di good, intermedie e poor, c'è anche very good e very poor. In dettaglio:

• *f* nel very good rimane la delezione dell'Y;

• *f* nel good rimane la delezione del 5q-, la delezione del 12p, del 20q, che c'era già. Una cosa di una certa importanza è che la delezione del 5q è favorevole quando la troviamo isolata, invece quando è in compagnia con altre cose, diventa meno favorevole. Nel good c'è una doppia che include la 5q-;

â•f lasciamo stare le intermedie

â•f nel poor c'è la monosomia del 7 e ci sono le anomalie complesse con 3 anomalie e poi c'è anche l'inversione e la delezione del 3 (rara);

â•f nel very poor è un cariotipo molto complesso con più di 3 anomalie.

In mezzo c'è tutto il resto, trisomia dell'8 etc. Nessuno ci chiederà queste cose, solo il concetto che la citogenetica è importante, e le classificazioni più recenti hanno complicato il quadro e hanno introdotto più variabili per definire un po' il valore prognostico.

(slide 54 e 55) Da questa complicazione è risultato un IPSS-R, IPSS rivisto, revised o refined. È stato pubblicato lo scorso anno, nel 2012. Sono sempre gli stessi parametri: i blasti del midollo, la citopenia, l'emoglobina, le piastrine, i neutrofili. La citogenetica è più complicata perché ne comprende 5. Il risultato è che c'è uno score più differenziato, e le curve di sopravvivenza invece che 3 diventano 5. La curva del low e del very low è buona, dà una sopravvivenza mediana, per il primo caso, che si avvicina fino a 8-10 anni, e nel secondo caso a 6 anni. Le curve di destra sono le curve di evoluzione, di sopravvivenza libera da evoluzione in LMA. Sono un po' diversi da quelli che vedevamo prima, ma era più o meno lo stesso concetto. Nella tabella in basso la sopravvivenza globale nella categoria bassa arriva verso i 9 anni, nella molto alta siamo sotto l'anno. La probabilità di evolvere in leucemia è inversamente proporzionale.

(slide 56 e 57) Terapia

Di terapia solo alcuni cenni, di cui abbiamo già detto. A tutt'oggi il trattamento fondamentale, per la maggioranza dei pazienti, è il supporto. Per supporto intendo trasfusioni, prevenzione, e terapia per le complicanze infettive ed emorragiche. Altra cosa importante è la ferrochelazione nei pazienti che fanno con parecchie trasfusioni. I fattori di crescita sono importanti soprattutto l'Epo, che funziona però in un subset di pazienti con livello endogeni di Epo non troppo alti. Quando si fa diagnosi di SMD, una delle cose da controllare è il livello di Eritropoietinemia. Se il paziente spontaneamente ha livelli molto alti di eritropoietinemia, verosimilmente non risponde alla terapia con Epo, anche se usiamo delle dosi alte. Nei pazienti che hanno leucopenia si usa il fattore di crescita granulocitario, però si usa solo se vanno incontro a gravi complicanze infettive, batteriche; la terapia cronica non è consigliata. Abbiamo già detto del trapianto allogenico. La chemioterapia talvolta si fa nelle forme che stanno evolvendo in LMA, ma solo se in prospettiva c'è la possibilità di fare un trapianto allogenico. Cioè si prepara il paziente al trapianto allogenico, che sarà la terapia d'elezione. In pazienti non troppo anziani, con modesta o bassa comorbidità, si può fare il trapianto allogenico. Se la quota blastica sta crescendo, o è notevole, può convenire fare un ciclo di chemioterapia come nelle LMA, per ridurre questa quota blastica e affrontare il trapianto in condizione meno sfavorevole.

Lezione di Ematologia del 17/12/2013 (1)

Lezione Ematologia 17.12.2013

Sbobinatore: Veronica Guerrato

Revisore : Zancan Giovanni

Trapianto Midollo Osseo

Si parla comunemente di trapianto di MO perché inizialmente si trapiantava solo ed esclusivamente quello, attualmente sarebbe più corretto parlare di trapianto di cellule staminali ematopoietiche. Le fonti di cellule staminali non sono solo il MO, ma anche il sangue periferico ed il cordone ombelicale, per questo è più corretto parlare di trapianto di CS.

Il trapianto è detto singenico quando avviene tra gemelli identici monovulari, è allogenico quando si trapiantano le CS da un familiare HLA identico, che di solito è un fratello o una sorella. Si può fare anche da un familiare non HLA identico anche se presenta qualche rischio in più, si parla di trapianto da familiare aploidentico, cioè solo per metà identico. Poi è molto diffuso il trapianto non da familiare, HLA compatibile, HLA identico (MUD= matched unrelated donor)

Poi c'è tutto il capitolo del trapianto autologo di cellule staminali, che in realtà non è un vero trapianto, ma un salvataggio da aplasia dovuta a trattamento chemioterapico a dosi sovra massimali, di cui si parlerà più avanti.

La cellula staminale ematopoietica si trova sia in MO che in sangue periferico. Le sue proprietà sono:

- La capacità di auto mantenersi
- La capacità di proliferazione e differenziarsi
- La capacità di dare origine sia a mielopoiesi che linfopoiesi: cellula da cui origina sia fabbrica del sangue, che è il midollo propriamente detto, che il sistema immunitario. Questo è un concetto importante nei trapianti allogenici

Le CS sono CD34+ quindi con citofluorimetria sono facilmente riconoscibili.

Dal punto di vista morfologico, invece, sono difficilmente riconoscibili, anche perché sono poche: sono blasti immaturi indifferenziati.

Basandosi solo sulla morfologia è impossibile quantificarle, cosa invece fattibile da citofluorimetria grazie alla positività per CD34

La popolazione staminale è eterogenea: ci sono le CS vere e proprie e poi ci sono vari gradini di parziale differenziazione delle CD34. Forse sarebbe più corretto parlare di cellule progenitrici, dato che solo una piccola percentuale di queste sono vere CS. Quindi non è possibile caratterizzarle dal punto di vista morfologico, si identificano con citofluorimetria.

Nel midollo di solito ne è contenuta una piccola quota (1-3%), nel cordone (sangue) una bassa percentuale e nel sangue periferico in condizioni normali la percentuale è bassissima, e sarebbe impossibile isolarle; si possono però isolare dal sangue periferico in condizioni particolari, che poi vedremo.

Il CD34 non è un antigene esclusivo delle CS ma è espresso anche sull' endotelio, ciò non ci dà problemi in citofluorimetria, perché si va ad identificare le cellule circolanti e non quelle dell' endotelio.

Quindi le CS si possono isolare 1) dall' MO, di solito dall' osso del bacino attraverso un ago particolare 2) dal sangue periferico in condizioni particolari 3) dal sangue del cordone ombelicale si può ricavare una piccola quantità, utilizzabile per trapiantare pz di massa corporea limitata: è una modalità di solito utilizzata in pediatria.

Se vogliamo ottenere CS dal MO facciamo un prelievo in sala operatoria dalle creste iliache posteriori con aghi in anestesia generale (tranne che in rare eccezioni in cui si può fare anestesia spinale)

CS da sangue periferico si ottengono attraverso la staminoafèresi, utilizzando delle speciali macchine separatrici che sono delle centrifughe, però solo dopo aver stimolato la produzione, l' aumento delle CS in periferia attraverso somministrazione di G-CSF.

Il prelievo di CS da cordone avviene subito dopo il parto dal sangue del funicolo.

Quando si fa raccolta di CS da midollo si fa il cosiddetto espianto (che precede il trapianto): dal pz addormentato disteso a pancia in giù, si preleva da entrambe le parti del bacino circa un litro di sangue midollare, cioè sangue che contiene grandi quantità di midollo. Il nr medio di cellule nucleate è molto alto: ca 25 miliardi. Noi ricaviamo un certo nr di cellule CD34+ per kilogrammo di peso del donatore che sono nell' ordine di qualche milione.

Dal sangue periferico si ricava una sacca di circa 200ml, a noi interessa ottenere con afèresi una quantità di cellule CD34+ che , rapportate al peso del pz, sia intorno ai 5 milioni: questa è la quantità che ci dà la sicurezza di fare il trapianto in condizioni ottimali.

Dal cordone si ottiene un nr di CS CD34+ di un logaritmo più piccolo rispetto all' afèresi da sangue periferico, motivo per cui sono ideali per i trapianti pediatrici e in adulti molto meno.

[Immagini di espianto di midollo]

Oggi non si utilizzano più aghi da risterilizzare ma monouso.

Alla fine si ottiene una sacca di sangue midollare che assomiglia molto a quelle da trasfusione. Da questa sacca si cerca di eliminare per centrifugazione la parte dei GR che non servono, e di tenere concentrate le cellule nucleate, tra le quali si trovano le CS.

In ogni caso dall' espianto di midollo si ottiene una sacca di sangue che poi viene reinfusa. Il trapianto, infatti, assomiglia a una trasfusione: la sacca viene infusa in vena al ricevente, sia in trapianto allogenico che in trapianto autologo.

Nel sangue, in condizioni normali le CD34 sono molto poche ma, in condizioni particolari, possono crescere di molto e venire raccolte attraverso questa macchina da afèresi. Ciò succede o, come si fa nei donatori sani, facendo iniezioni ripetute di fattore di crescita, determinando un aumento dei GB in periferia e anche delle cellule CD34+, che possono venire raccolte; prima di raccoglierle si controlla con la citofluorimetria quante ce ne sono, cioè se in quel momento c' è un nr ottimale per la raccolta. In genere si fa un monitoraggio giorno per giorno per cogliere l' attimo migliore in cui il loro nr è al massimo. Si può utilizzare solo il fattore di crescita oppure si fa una combinazione, e questo in genere si utilizza nel trapianto autologo, cioè si fa una chemioterapia aplastizzante e poi, in aplasia, si inietta il fattore di crescita. A quel punto, un po' per gli effetti di rebound che dà l' aplasia, cioè che in aplasia il corpo produce da sé del fattore di crescita che stimola ricrescita i GB, e un po' per l' effetto farmacologico del fattore di crescita iniettato, c' è la mobilitazione in periferia di una notevole quantità di queste cellule CD34, e, quando c' è il picco massimo, si fa raccolta.

Durante fase di recupero dell' aplasia, soprattutto se si somministra il fattore di crescita, intorno alla decima giornata dalla chemioterapia, quando la concentrazione di CD34 supera una certa percentuale, si fa leucoafèresi con macchina separatrice.

Talvolta non basta un' unica seduta, è necessario ripetere 2-3 sedute dileucoafèresi successive per ottenere la quantità sufficiente al trapianto.

Ci sono individui che mobilitano di più e individui che mobilitano meno. Una scarsa mobilitazione si trova nei soggetti in cui MO è stato "tartassato" con precedenti cicli di chemioterapia e presenta una ridotta capacità di risposta, compenso e produzione di cellule.

Pz ha 2 accessi venosi (da CVC o da vena periferica): il sangue esce, passa attraverso la macchina, che raccoglie la quota contenente CD34 e reinietta il sangue depauperato. Si tratta di un ciclo continuo e il processo può richiedere diverse ore. Alla fine si ottiene una piccola sacca contenente cellule nucleate molto ricche di CD34+.

Questa procedura si utilizza costantemente nel trapianto autologo ed è una delle 2 alternative possibili per il trapianto allogenico: nel 50% casi si esegue il trapianto di CS, nell' altro 50% si esegue trapianto di MO, a seconda delle preferenze di chi fa il trapianto. Entrambe le procedure presentano dei vantaggi e degli svantaggi.

Quindi la leucoafèresi o staminoafèresi è l' unica strategia utilizzabile per il trapianto autologo, mentre per il trapianto allogenico è una delle possibilità

Se facciamo il trapianto autologo le cellule staminali devono essere congelate.

Noi otteniamo CS e successivamente, anche a distanza di parecchio tempo, sottoporremo pz a chemioterapico in dosi sovra massimali, dopodiché si avrà re infusione CS che sono state criopreservate, cioè conservate in azoto liquido.

Vengono congelate con apparecchiature particolari, visto che, ponendo direttamente le sacche in azoto, le cellule verrebbero distrutte, in quanto il congelamento rapido determina la formazione di cristalli d'acqua che uccidono le cellule. Prima del congelamento bisogna aggiungere un criopreservante e poi il congelamento deve avvenire con un processo particolare, monitorato nel tempo e nella temperatura (tale processo è svolto da una macchina apposita). Una volta congelate le sacche possono essere poste in azoto liquido, che andrà rifornito periodicamente.

Trapianto autologo

Non è considerabile un vero e proprio trapianto, ma una modalità di protezione del pz dalla tossicità di chemio/radioterapia ad alti dosi, che sarebbe eccessivamente tossica e potrebbe portare a aplasia irreversibile.

Avendo raccolto e congelato CS possiamo sottoporre il pz a chemioterapia a dosi "esagerate", in questo modo possiamo sfruttare la maggiore attività di questi chemioterapici rispetto al tumore, che può essere ematologico ma anche non ematologico. Cioè possiamo incrementare la dose di chemioterapico per ottenere un effetto maggiore, migliore. In questi dosaggi non siamo più limitati dalla tossicità ematologica perché abbiamo il "rescue" fornito da CS congelate, che andranno reinfuse quando i farmaci sono stati già metabolizzati e eliminati. Quindi le CS non risentono della chemio e nel momento in cui vengono reinfuse ripristinano l'emopoiesi, infatti le aplasie dopo trapianto autologo sono più brevi rispetto a quelle osservate con chemioterapia svolta a dosi non sovra massimali, cioè che non determinano aplasia irreversibile.

Quindi con il trapianto autologo possiamo somministrare chemioterapie che senza trapianto determinerebbero un aplasia irreversibile.

L'unica limitazione è dovuta alla tossicità non ematologica, infatti i chemioterapici possono essere tossici per il cuore, per il fegato ecc. Quindi dei limiti ci sono, non si possono utilizzare dosi illimitate di farmaco; però dato che limite più importante è dato da tossicità ematologica, si riesce comunque ad aumentare in maniera importante i dosaggi.

Il trapianto autologo consente di somministrazione di chemioterapia a dosi più alte, consentendo di vincere la resistenza del tumore alle dosi standard di chemioterapia, talvolta, non sempre.

Schema: prelievo CS o dal MO o dal sangue periferico, chemio o radioterapia (di solito chemio), reinfusione CS

Il trapianto autologo viene utilizzato in campo ematologico per:

- linfomi Hodgkin e non-Hodgking: naturalmente non tutti i casi alla diagnosi, solo i casi che presentano fattori di rischio particolarmente cattivi o che non rispondono alla terapia o che sono ricaduti dopo terapia standard;
- Mieloma: pz con mieloma, non anziani, vengono trapiantati rutinariamente in quanto si è visto che il trapianto consente un aumento della sopravvivenza e un allungamento della sopravvivenza rispetto alla malattia. Il mieloma è una malattia che non si può curare ma si può aumentare di molto la lunghezza e la qualità della vita;
- Leucemie acute: qualcuno Utilizza il trapianto autologo e qualcuno è contrario, perché vi è rischio di re infusione di cellule leucemiche; lo stesso vale per le leucemie croniche;
- Tumori solidi: maggiormente in passato, oggi meno es. per tumore mammella avanzato.

L'impiego maggiore del trapianto autologo è in campo ematologico.

Schema linfoma di Hodgking:

si fa un ciclo di chemio (CY, ciclofosfamide, è il chemio terapeutico somministrato a dosi piuttosto generose) che provoca una fase di aplasia, all'uscita dalla quale sotto stimolo con G-CSF aumentano le CS in periferia che si raccolgono, si congelano e si re infondono dopo aver fatto un altro ciclo di chemioterapia.

Domanda: per quale motivo si utilizza il trapianto autologo nei confronti dei tumori solidi?

Risposta: Sempre per lo stesso motivo, cioè si ritiene che dosi più alti di chemio siano in grado di ottenere risultati migliori cioè che siano in grado di vincere la resistenza delle cellule neoplastiche ai chemioterapici, sulla base del concetto "more is better" che non è sempre vero ma spesso sì.

Adesso per il tumore alla mammella l'impiego è rientrato in parte anche per l'introduzione di farmaci biologici particolarmente attivi, per cui la mammella è trattata con chemioterapia e farmaci biologici.

Schema Mieloma:

anche qui si esegue condizionamento (chemioterapia a dosi sovra massimali, utilizzando Melfalan che è molto attivo nei mielomi), e si possono eseguire anche 2 trapianti di seguito, sempre che la quantità di CS raccolte sia sufficiente a svolgere due trapianti.

Curve del mieloma in cui si vede vantaggio, in termini di sopravvivenza, del trapianto oltre a terapia convenzionale; anche nel caso del mieloma sono entrati in uso farmaci di tipo biologico. Quindi per il Mieloma oltre al trapianto sono presenti altre strategie, che solitamente vengono utilizzate in maniera combinata.

Comunque le curve continuano a calare, quindi il mieloma comunque non è una malattia curabile.

Curve del trapianto autologo rispetto alla chemioterapia tradizionale nel linfoma a cellule del mantello o linfoma mantellare, che è poco responsivo alla chemioterapia, e in questi casi è utile eseguire il trapianto autologo.

Le statistiche del Gruppo Italiano Trapianto di Midollo dimostrano come negli anni c'è stato un aumento e poi un plateau nei casi di trapianto autologo, mentre i casi di trapianto allogenico continuano ad aumentare.

In ogni caso i trapianti autologhi sono tuttora più numerosi degli allogenici, anche perché sono più semplice da eseguire. Il trapianto allogenico ha tutta una serie di complicanze che richiede un'esperienza particolare.

Domanda: I tipi di condizionamento?

Risposta: I tipi di condizionamento sono vari a seconda della malattia che si va a curare, per esempio nel mieloma si usa esclusivamente il melfalan, che però non si usa nei linfomi, per i quali invece si utilizzano alchilanti, talvolta la ciclofosfamide ecc.

Domanda: Lo scopo qual è?

Risposta: Fare una chemioterapia a dosi molto alte che riesca a vincere la resistenza la resistenza che il tumore può sviluppare rispetto alle dosi standard di terapia (diamo una botta in testa più forte al tumore).

Trapianto allogenico

Anche qui si fa la terapia di condizionamento, che per l'allogenico è una megachemioterapia (come per l'autologo) alla quale si associa anche la radioterapia, naturalmente la radioterapia nel trapianto di MO deve essere total body, altrimenti non avrebbe senso.

Il trattamento radio-chemioterapico serve a eliminare il MO vecchio, per fare spazio a quello nuovo. È importante fare immunosoppressione del pz, altrimenti si rischia che rigetti il trapianto. Questo concetto vale per tutti i tipi di trapianto anche se quello di MO presenta delle caratteristiche peculiari.

Il condizionamento dovrebbe inoltre eliminare le eventuali cellule residue rimaste a livello midollare, questo vale soprattutto per le leucemie acute, soprattutto le mieloidi ma anche le linfoblasti che, se noi ci basiamo solo su chemio, anche ottenendo remissione completa, di avere una ricaduta. Se invece noi associamo alla chemio il trapianto questo rischio non si elimina ma si riduce di molto. Naturalmente c'è un prezzo da pagare (*non so a cosa si riferisca ndr*)

Il condizionamento per il trapianto allogenico può essere molto complesso e può durare alcuni giorni.

Schema:

FTBI (Total Body Irradiation Frazionata) si può fare in un solo giorno ma è meno tossica se la si fraziona in vari giorni. Il totale è 8 Gy (normalmente un soggetto può sopportare una dose massima, senza essere distrutto, di 10gy).

Poi si utilizza il busulfano a dosi elevate, ma si può usare anche la ciclofosfamide.

Quindi è un'insieme di chemio e radioterapia in un ciclo abbastanza complesso. Finito il ciclo si aspettano alcune ore per consentire l'eliminazione dei farmaci e poi si procede con l'infusione delle cellule staminali.

I giorni precedenti al trapianto nei quali si effettua il condizionamento sono indicati con dei numeri negativi (-1,-2...), il giorno del trapianto è il giorno 0 e i giorni successivi sono indicati con dei numeri positivi (+1,+2...).

Se per qualche motivo non si riuscisse a eseguire il trapianto (dopo avere eseguito il condizionamento) il paziente muore. Il condizionamento determina un aplasia irreversibile, alla quale non è possibile sopravvivere senza trapianto. Quindi bisogna essere sicuri che in questo giorno X, si abbiano a disposizione o il donatore stesso oppure il suo midollo espantato. Questo midollo può essere stato espantato a migliaia di km di distanza. Infatti quando eseguiamo un trapianto da familiare, abbiamo a disposizione il donatore, ma quando eseguiamo un trapianto allogenico da donatore volontario da registro, il midollo può venire da altre parti del mondo. Le cellule staminali espantate vengono poste in frigo portatile, non devono venire congelate ma poste a una temperatura di circa 4°C, dopodiché il corriere, che può essere un infermiere ma anche una persona qualunque che fa questo lavoro, monta in aereo e fa il viaggio per arrivare a Vr. Il massimo consentito per la vitalità di queste cellule è 48h.

Quando si inizia il condizionamento si spera che il midollo arrivi perché è un processo irreversibile.

Complicanze del trapianto di MO allogenico:

sono le complicanze del condizionamento:

- Pancitopenia: distruggendo MO il soggetto diventa aplastico;
- Mucosite: le cellule delle mucose sono cellule ad elevato turnover e quindi particolarmente sensibili ai chemioterapici. Questi pazienti presentano stomatiti che sono terribilmente dolorose vanno trattate con la morfina per essere sopportate;
- Nausea e Vomito;
- Tossicità epatica: solo in alcuni casi;
- Enterite e Diarrea: causate da mucosite;
- Tossicità cardiaca;
- Cistite emorragica: dovuta ai farmaci, soprattutto ciclofosfamide, che vengono eliminati per via urinaria, per cui al pz viene inserito un grosso catetere urinario con il quale si procede a lavaggi vescicali affinché non si accumulino a questo livello metaboliti tossici dei farmaci;
- Polmonite interstiziale: in genere sostenuta da CMV, comune in immunodepressi, e quindi nei trapiantati.

Quando facciamo un trapianto allogenico, e questa è la principale differenza dal trapianto autologo, non solo facciamo una chemio-radioterapia a dosi molto alte, come nell'autologo sperando di vincere la resistenza ai farmaci del tumore, ma facciamo anche una terapia immunologica, perché dalle CS del donatore, che sono diverse da quelle del ricevente anche se compatibili, non originano solo cellule ematopoietiche, ma anche il sistema immunitario. Quindi quando le CS trapiantate avranno attecchito, cioè cominciano a funzionare (quando trasfendiamo le CS queste entrano in circolo e sono in grado di arrivare al MO, di "trovare la strada di casa", questo è vero solo in parte, perché molte di esse rimangono intrappolate a livello polmonare, dove è presente un microcircolo molto sviluppato, quindi c'è una perdita di CS) consentendo esaurimento aplasia, con ricostituzione ematologica, avviene in contemporanea anche ricostituzione immunologica. Quindi il ricevente cambia non solo di emopoiesi, per esempio

cambia di gruppo sanguigno) ma anche il sistema immunitario, e la memoria immunitaria non è più la sua ma quella del donatore, per esempio per quanto riguarda la memoria immunitaria dovuta alle vaccinazioni. Ma la cosa più importante è che il sistema immunitario che si ricostituisce, che è quello del donatore, è in grado di riconoscere le cellule del ricevente, perché vi è compatibilità ma non sono identiche; riconosce determinanti antigenici delle cellule del ricevente come “non di casa” e può reagire, sia in senso positivo che in senso negativo.

In senso positivo nel senso che eventuali cellule neoplastiche residue, che presentano i determinanti antigenici del ricevente, possono venire riconosciute dalle cellule del donatore. Quindi con il trapianto, questo nuovo sistema immunitario sarà in grado di rifinire il lavoro fatto dalla chemioterapia, cioè di eliminare le cellule neoplastiche residue (GVL o GVT)

C'è anche un lato negativo, cioè le cellule del donatore possono riconoscere come non loro l'ambiente e reagire contro questo determinando la GVHD.

GVHD

Situazione opposta rispetto trapianto di rene in cui il sistema immunitario del ricevente rimane il suo e rigetta l'organo trapiantato, nel trapianto di MO invece il sistema immunitario è quello del donatore, che va a rigettare il ricevente.

Il GVHD è ancora un grosso problema dei trapianti, nonostante la scoperta dei farmaci immunosoppressori, soprattutto dei derivati della ciclosporina, abbia portato ad un netto miglioramento rispetto al passato.

C'è una GVH acuta, che si sviluppa entro 3 mesi dal trapianto, e una cronica.

Questa GVH può interessare diversi organi e dare diversi problemi:

- uno dei più comuni è la GVH cutanea che inizia come un eritema però può arrivare a una dermatite grave con anche esfoliazione, così che questi pazienti diventano dei grandi ustionati. Si valuta inizialmente eritema sulle mani;
- GVH epatica: epatite;
- GVH intestinale: diarrea spaventosa;

GVH causa diretta/indiretta di morte di molti pazienti trapiantati

[Immagini]

GVH (*cutanea*) può cronicizzare e dare un quadro simile alla sclerodermia; molte GVH danno un quadro simile a patologie reumatologiche.

Per prevenire queste GVH è necessaria una terapia immunosoppressoria, ma se ne fa troppa si toglie vantaggio GVL che è intrinseco a trapianto allogenico. Quindi il bravo tra piantatore tiene in equilibrio GVH e GVL.

GVL

Il sistema immunitario del donatore riconosce come non-self le cellule neoplastiche, non solo quelle, e tende a distruggerle. L'immunoterapia è importante nell'efficacia del trapianto allogenico, che è più complesso, dà più problemi ma è più efficace del trapianto autologo, soprattutto in casi come le leucemie acute, in cui si rischia di reinfondere cellule leucemiche.

Questa GVL può talvolta venire rinforzata dopo il trapianto tramite l'infusione di linfociti del donatore, che sono immunocompetenti, strettamente imparentate con quelli derivati dal MO trapiantato e sono in grado di potenziare l'effetto antineoplastico dovuto al sistema immunitario derivato dal MO trapiantato.

Al giorno d'oggi si trapiantano pochissime LMC perché il nuovo farmaco le guarisce quasi tutte, e sono pochi i pz che non rispondono agli inibitori di TK.

Studio svolto prima della scoperta di questi farmaci, per cui si eseguiva il trapianto: le curve di ricaduta (più è pendente più è facile che ci sia una ricaduta) mostrano che quando noi facciamo un trapianto singenico non abbiamo né GVL né GVH, quindi non conviene farlo tranne che nel caso dell'anemia aplastica, perché in quel caso non ci sono cellule neoplastiche da distruggere. Allora per evitare GVH si toglievano cellule T dal MO, però anche in questo caso si preveniva sia GVL che GVH. Se si lasciavano cellule T, invece, le ricadute erano poche e tardive, e quindi c'era l'effetto GVL. Prima prova clinica della GVL.

Domanda: in GVL il fatto che le cellule vadano ad attaccare le cellule neoplastiche è dovuto alle cellule T del donatore residue nel MO o a quelle che si differenziano dal MO trapiantato?

Risposta: In parte le cellule T residue e in parte quelle che si sviluppano dalle CS, anche perché l'immunocompetenza T si sviluppa tardivamente mentre le cellule T che contaminano il MO sono in grado di agire subito.

Indicazioni al trapianto allogenico:

- non solo le malattie oncoematologiche (leucemie, linfomi, ecc) ma anche altre malattie, addirittura anche malattie congenite come l'anemia aplastica e l'anemia di Fanconi, che possono essere anche di tipo pediatrico;
- anche gli immunodeficit gravi possono beneficiare da un trapianto allogenico;
- la Talassemia grave (morbo di Cooley) talvolta viene trapiantata;
- Le malattie acquisite, quindi le neoplasie, quali linfomi, le leucemie ecc. La LMC viene trapiantata poco al pari dei tumori solidi, mentre nella leucemia linfatica cronica sta aumentando l'indicazione al trapianto, anche se, trattandosi di pazienti anziani, non sono molti quelli indicabili al trapianto.

Per poter fare un trapianto allogenico è necessario avere un donatore. Per quanto riguarda un fratello la probabilità è del 25-30% (probabilità di avere un fratello HLA identico è del 25%), quindi le famiglie numerose di una volta davano frequentemente un donatore, mentre le famiglie ristrette attuali danno scarsa probabilità.

Per quanto riguarda un donatore volontario la probabilità è molto variabile a seconda dell'assetto genico del pz: un soggetto del nord/centro-Italia ha discrete probabilità di trovare un donatore perché siamo una popolazione mescolate con tutto il resto

d'Europa, la maggior parte dei donatori provengono, infatti, dall'Europa o dagli Stati Uniti, che hanno una popolazione costituita da emigranti; a livello delle isole le probabilità sono diverse.

Per quanto riguarda il trapianto da cordone il problema è diverso e riguarda il peso del paziente, è una tecnica molto usata in ambito pediatrico, mentre per gli adulti può essere un problema.

Il trapianto allogenico presenta un rischio di mortalità e morbilità importante, per infezioni, per GVH e per complicanze anche tardive, ed è una procedura che ha un costo molto elevato.

È la classica indicazione per le leucemie acute, ma solo una piccola percentuale dei pazienti riesce ad arrivare al trapianto, perché 1) il pz non può essere anziano (>65 anni) altrimenti non sopporterebbe la procedura; 2) il pz deve avere remissione completa: non si fa il trapianto come terapia di prima linea, ma come terapia di consolidamento, e non tutte le leucemie giungono a remissione completa. Questo è valido per LMC ma anche leucemia linfoblastica, per es la leucemia linfoblastica Ph+, nonostante oggi possa venire trattata con gli inibitori di TK, i risultati sono comunque transitori e andrebbe trapiantata. Ci sono poi alcune leucemie mieloidi acute che non andrebbero trattate in prima linea, per esempio la leucemia promieloblastica non va trapiantata, perché ha delle ottime probabilità di guarire con la sola terapia con chemio e retinoidi; anche le leucemie linfoidi acute a buona prognosi, come quelle con t(8:21) o inv16, non vanno trapiantate perché hanno buone probabilità di rispondere alla sola chemio, vanno trapiantate solo se ricadono. Le altre vanno trapiantate, le mielodisplasie per esempio, non i casi degli anziani, ma quei pochi casi che vengono ai giovani, soprattutto a seguito di chemioterapie precedenti, vanno trapiantate.

C'è un'ulteriore evenienza nel caso della leucemia acuta: 3) il pz arriva a remissione completa, ma non ha un familiare compatibile, quindi si attiva la ricerca da registro che può durare anche parecchi mesi (è anche possibile che un donatore non venga trovato), durante i quali il pz potrebbe ricadere. In questo caso non si può eseguire il trapianto, bisogna prima reindurre la remissione attraverso la chemioterapia, che però, in seguito a ricaduta, non sempre funziona.

Quindi un pz con leucemia acuta va trapiantato il prima possibile dopo remissione completa, che però non è sempre facile da realizzare.

Gestione del trapianto: si fa la profilassi per il GVH e terapia di supporto per la mucosite, l'aplasia, la nausea, il vomito, ecc.

Ci sono importanti problemi infettivi perché il pz è severamente immunodepresso.

Sono le problematiche che si trovano nelle leucemie acute sottoposte a chemioterapie ma aumentate esponenzialmente, perché la situazione di immunocompromissione è peggiore.

Registri di donatori volontari:

- oltre 15 milioni di donatori;
- i tempi medi per concludere una ricerca sono di alcuni mesi;
- la probabilità di trovare un donatore compatibile è del 40-60%;
- la maggior parte dei donatori sono in Europa e nel Nord America.

Attività di trapianto fino al 2011: il trapianto da familiare è in crescita moderata; hanno avuto un grosso sviluppo negli ultimi anni i trapianti da donatore da registro; i trapianti da familiare aploidentico, invece, sono molto limitati.

In Italia i trapianti da familiare sono in diminuzione a causa della diminuzione del nr di figli; i trapianti da donatore da registro sono in forte aumento, mentre quelli da familiare aploidentico sono limitati.

Il trapianto allogenico si può fare sia con il MO che dalle cellule periferiche, in quest'ultimo caso il donatore viene sottoposto a successive iniezioni di G-CSF per alcuni giorni, si monitora l'aumento delle CD34, e quanto raggiungono il valore soglia si procede alla leucoferesi o staminoferesi.

I vantaggi sono che si evita l'anestesia, però devo inserire in succlavia un catetere da aferesi, che può dare complicanze trombotiche, in più devo eseguire le iniezioni di fattore di crescita che non sono del tutto innocue, possono dare febbre, dolori ossei, ecc. Ci sono dei pro e dei contro, i vantaggi sono: non è necessario il ricovero; la ripresa ematologica è più rapida; forse c'è un'attività GVL più marcata, perché aumentano i linfociti T; la GVH acuta non è aumentata ma è aumentata quella cronica.

Nel mondo una volta si facevano solo i trapianti allogenici da midollo, e questa quota è rimasta invariata; dalla fine degli anni '90 sono aumentati sia i trapianti da CS periferiche che i trapianti da cordone (cellule placentari). In Italia più o meno è lo stesso trend.

In ogni caso i trapianti da cord blood sono limitati per le ragioni che abbiamo visto prima.

[Il professore parla dei centri di trapianto in Italia]

Confronto tra trapianti nei bambini e negli adulti. Negli adulti la grossa fetta è dovuta alle leucemie acute (60% circa), poi linfomi e mielodisplasie. Nei bambini invece ci sono le leucemie ma anche le emoglobinopatie, le immunodeficienze e le malattie metaboliche, però in termini numerici assoluti sono molto inferiori.

Andamento a livello mondiale dei trapianti allogenici a seconda della malattie, quelle che vengono trapiantate di più sono le leucemie acute, soprattutto mieloidi, meno i linfomi, le mielodisplasie e la LMC, che attualmente viene trapiantata poco, ecc.

Trapianto da cordone

La raccolta del sangue da cordone si esegue in sala parto, lo fanno le ostetriche.

Vantaggi e svantaggi del cord blood :

Gli svantaggi sono che le cellule sono poche, devono essere congelate e conservate, anche per lunghi periodi, con grossi costi, mentre un donatore volontario si auto conserva. Il problema del donatore volontario è che, quando viene chiamato, non sempre è pronto: giovani donne che scoprono di essere in gravidanza, per cui il trapianto salta per parecchi mesi; qualcuno si ammala; qualcuno è in viaggio all'estero, per cui quando viene chiamato non è in grado di rispondere, ecc.

I vantaggi sono che è pronto; non ci sono rischi per il prelievo; i problemi di compatibilità sono meno stringenti, c'è una maggiore tolleranza immunologica per cui ci sono meno GVH.

Però sono adatti solo per pazienti di piccole dimensioni anche se ora stanno sperimentando nuove tecniche, per cui trapiantando le CS direttamente nel bacino ne vengono perse meno (abbiamo visto prima come una quota delle CS trasfuse in vena vengono perse a livello polmonare) e dunque è necessaria una quantità inferiore (Intrabone Transplant). È in corso di sperimentazione.

È necessario un grande costo, in quanto bisogna creare apposite strutture con contenitori di azoto, e va considerato che la maggior parte di questi cordoni non verranno mai utilizzati.

Minitrapianto (trapianto non mieloablativo)

Duplicata attività del trapianto: il trapianto STAB (mieloablativo) con radio e chemioterapia ad alte dosi distrugge le cellule neoplastiche, poi le cellule del donatore fanno un lavoro di fino, per liberare l'organismo dalle cellule neoplastiche residue. Nel trapianto allogenico il condizionamento è qualcosa di molto tossico e pericoloso e può dare mortalità nei pz non in buone condizioni, quindi gli anziani è meglio che non facciano un trapianto allogenico standard. È possibile però fare un condizionamento non ad alte dosi, ma che sia sufficiente ad immunosopprimere il pz ed evitare il rigetto, e poi si fa il trapianto insieme all'infusione di linfociti in modo da sfruttare al massimo l'attività immunoterapia del trapianto e al minimo l'attività mieloablativa del condizionamento. La malattia però non deve essere aggressiva, deve avere un decorso relativamente indolente, come la mielodisplasia o la leucemia cronica, che consenta di avere il tempo sufficiente perché si sviluppi il sistema immunitario trapiantato, senza che la malattia abbia il sopravvento.

Figura: A sono le cellule del pz e B sono le cellule del donatore. Dopo il trapianto, siccome la terapia non è mieloablativa, avremo un misto di cellule del donatore e di cellule residue del ricevente. Aggiungeremo delle infusioni di linfociti del donatore e, un po' alla volta, sempre che la malattia non progredisca rapidamente, si avrà che le cellule del donatore prenderanno il sopravvento sulle cellule del ricevente, distruggendole con i loro meccanismi immunologici, in modo da ottenere una chimera completa. Nei trapiantati abbiamo sempre una chimera, per esempio se trapiantiamo un uomo con il MO di una donna, avremo le cellule somatiche che rimangono maschili, mentre le cellule ematopoietiche cambiano di sesso oltre che, eventualmente, di gruppo, perché il cariotipo delle cellule midollari è XX e non XY.

Questo tipo di trapianto può andare bene per malattie che non hanno una cinetica molto elevata, e soprattutto è utile per pz più anziani rispetto a quelli che possono fare il trapianto standard e quindi sono in condizioni non ideali per una terapia molto tossica come quella del condizionamento per il trapianto standard. È un trapianto più "soft" che si può fare negli anziani però le indicazioni sono un po' più limitate.

Naturalmente i pz più giovani vanno meglio di quelli anziani, anche se l'età non ha una grande importanza.

I centri che fanno trapianto autologo sono molti di più di quelli che fanno trapianto allogenico, visto che è molto più semplice da fare.

Domanda: Per quanto riguarda il trapianto cordonale, non sarebbe possibile far proliferare le cellule staminali in modo da avere una maggiore disponibilità di cellule?

Risposte: Sono 20-30 anni che ci provano, penso che sia possibile, ma in pratica non ho ancora visto risultati.